N° d'ordre :

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ SCIENTIFIQUE ET MÉDICALE DE GRENOBLE

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR DE 3e CYCLE DE CHIMIE PHYSIQUE QUANTIQUE

PAR

François René TARAVEL

Licencié ès Sciences Physiques
(Mention Chimie)

SUJET

Préparation de dérivés sélectivement deutériés du D-glucose

Soutenue le 9 Mars 1972, devant la Commission d'Examen

JURY

MM. D. GAGNAIRE — *Président*

C. BEGUIN, R. TEOULE — *Examinateurs*

N° d'ordre :

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ SCIENTIFIQUE ET MÉDICALE DE GRENOBLE

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR DE 3e CYCLE DE CHIMIE PHYSIQUE QUANTIQUE

PAR

François René TARAVEL

Licencié ès Sciences Physiques
(Mention Chimie)

SUJET

Préparation de dérivés sélectivement deutériés du D-glucose

Soutenue le 9 Mars 1972, devant la Commission d'Examen

JURY

MM. D. GAGNAIRE — *Président*
C. BEGUIN, R. TEOULE — *Examinateurs*

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE SCIENTIFIQUE
ET MEDICALE DE GRENOBLE

LISTE DES PROFESSEURS

Président : Monsieur Michel SOUTIF
Vice-Président : Monsieur Gabriel CAU

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	ANGLES D'AURIAC Paul	Mécanique des fluides
	ARNAUD Georges	Clinique des maladies infectieuses
	ARNAUD Paul	Chimie
	AUBERT Guy	Physique
	AYANT Yves	Physique approfondie
Mme	BARBIER Marie-Jeanne	Electrochimie
MM.	BARBIER Jean-Claude	Physique expérimentale
	BARBIER Reynold	Géologie appliquée
	BARJON Robert	Physique nucléaire
	BARNOUD Fernand	Biosynthèse de la cellulose
	BARRA Jean-René	Statistiques
	BARRIE Joseph	Clinique chirurgicale
	BENOIT Jean	Radioélectricité
	BERNARD Alain	Mathématiques Pures
	BESSON Jean	Electrochimie
	BEZES Henri	Chirurgie générale
	BLAMBERT Maurice	Mathématiques Pures
	BOLLIET Louis	Informatique (IUT B)
	BONNET Georges	Electrotechnique
	BONNET Jean-Louis	Clinique ophtalmologique
	BONNET-EYMARD Joseph	Pathologie médicale
	BONNIER Etienne	Electrochimie Electrométallurgie
	BOUCHERLE André	Chimie et Toxicologie
	BOUCHEZ Robert	Physique nucléaire
	BRAVARD Yves	Géographie
	BRISSONNEAU Pierre	Physique du Solide
	BUYLE-BODIN Maurice	Electronique
	CABANAC Jean	Pathologie chirurgicale
	CABANEL Guy	Clinique rhumatologique et hydrologie
	CALAS François	Anatomie
	CARRAZ Gilbert	Biologie animale et pharmacodynamie
	CAU Gabriel	Médecine légale et Toxicologie
	CAUQUIS Georges	Chimie organique
	CHABAUTY Claude	Mathématiques Pures
	CHARACHON Robert	Oto-Rhino-Laryngologie
	CHATEAU Robert	Thérapeutique
	CHENE Marcel	Chimie papetière
	COEUR André	Pharmacie chimique
	CONTAMIN Robert	Clinique gynécologique
	COUDERC Pierre	Anatomie Pathologique
	CRAYA Antoine	Mécanique
Mme	DEBELMAS Anne-Marie	Matière médicale
MM.	DEBELMAS Jacques	Géologie générale
	DEGRANGE Charles	Zoologie
	DESSAUX Georges	Physiologie animale
	DODU Jacques	Mécanique appliquée
	DOLIQUE Jean-Michel	Physique des plasmas
	DREYFUS Bernard	Thermodynamique
	DUCROS Pierre	Cristallographie
	DUGOIS Pierre	Clinique de Dermatologie et Syphiligraphie
	FAU René	Clinique neuro-psychiatrique
	FELICI Noël	Electrostatique
	GAGNAIRE Didier	Chimie physique
	GALLISSOT François	Mathématiques Pures
	GALVANI Octave	Mathématiques Pures
	GASTINEL Noël	Analyse numérique
	GERBER Robert	Mathématiques Pures

MM.	GIRAUD Pierre	Géologie
	KLEIN Joseph	Mathématiques Pures
Mme	KOFLER Lucie	Botanique et Physiologie végétale
MM.	KOSZUL Jean-Louis	Mathématiques Pures
	KRAVTCHENKO Julien	Mécanique
	KUNTZMANN Jean	Mathématiques Appliquées
	LACAZE Albert	Thermodynamique
	LACHARME Jean	Biologie végétale
	LATREILLE René	Chirurgie générale
	LATURAZE Jean	Biochimie pharmaceutique
	LAURENT Pierre	Mathématiques Appliquées
	LEDRU Jean	Clinique médicale B
	LLIBOUTRY Louis	Géophysique
	LOUP Jean	Géographie
Mle	LUTZ Elisabeth	Mathématiques Pures
	MALGRANGE Bernard	Mathématiques Pures
	MALINAS Yves	Clinique obstétricale
	MARTIN-NOEL Pierre	Séméiologie médicale
	MASSEPORT Jean	Géographie
	MAZARE Yves	Clinique médicale A
	MICHEL Robert	Minéralogie et Pétrographie
	MOURIQUAND Claude	Histologie
	MOUSSA André	Chimie nucléaire
	NEEL Louis	Physique du Solide
	OZENDA Paul	Botanique
	PAUTHENET René	Electrotechnique
	PAYAN Jean-Jacques	Mathématiques Pures
	PEBAY-PEYROULA Jean-Claude	Physique
	PERRET René	Servomécanismes
	PILLET Emile	Physique industrielle
	RASSAT André	Chimie systématique
	RENARD Michel	Thermodynamique
	REULOS René	Physique industrielle
	RINALDI Renaud	Physique
	ROGET Jean	Clinique de pédiatrie et de puériculture
	SANTON Lucien	Mécanique
	SEIGNEURIN Raymond	Microbiologie et Hygiène
	SENGEL Philippe	Zoologie
	SILBERT Robert	Mécanique des fluides
	SOUTIF Michel	Physique générale
	TANCHE Maurice	Physiologie
	TRAYNARD Philippe	Chimie générale
	VAILLAND François	Zoologie
	VALENTIN Jacques	Physique Nucléaire
	VAUQUOIS Bernard	Calcul électronique
Mme	VERAIN Alice	Pharmacie galénique
M.	VERAIN André	Physique
Mme	VEYRET Germaine	Géographie
MM.	VEYRET Paul	Géographie
	VIGNAIS Pierre	Biochimie médicale
	YOCCOZ Jean	Physique nucléaire théorique

PROFESSEURS ASSOCIES

MM.	BULLEMER Bernhard	Physique
	HANO JUN-ICHI	Mathématiques Pures
	STEPHENS Michaël	Mathématiques Appliquées

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.	BEAUDOING André	Pédiatrie
Mme	BERTRANDIAS Françoise	Mathématiques Pures
MM.	BERTRANDIAS Jean-Paul	Mathématiques appliquées
	BIAREZ Jean-Pierre	Mécanique
	BONNETAIN Lucien	Chimie minérale
Mme	BONNIER Jane	Chimie générale
MM.	CARLIER Georges	Biologie végétale
	COHEN Joseph	Electrotechnique
	COUMES André	Radioélectricité
	DEPASSEL Roger	Mécanique des Fluides
	DEPORTES Charles	Chimie minérale
	DESRE Pierre	Métallurgie
	GAUTHIER Yves	Sciences biologiques
	GEINDRE Michel	Electroradiologie
	GERMAIN Jean Pierre	Mécanique
	GIDON Paul	Géologie et Minéralogie
	GLENAT René	Chimie organique
	HACQUES Gérard	Calcul numérique
	JANIN Bernard	Géographie
Mme	KAHANE Josette	Physique
MM.	MULLER Jean-Michel	Thérapeutique
	PERRIAUX Jean-Jacques	Géologie et minéralogie
	POULOUJADOFF Michel	Electrotechnique
	REBECQ Jacques	Biologie (CUS)
	REVOL Michel	Urologie
	REYMOND Jean-Charles	Chirurgie générale
	ROBERT André	Chimie papetière
	SARRAZIN Roger	Anatomie et chirurgie
	SARROT-REYNAULD Jean	Géologie
	SIBILLE Robert	Construction Mécanique
	SIROT Louis	Chirurgie générale
Mme	SOUTIF Jeanne	Physique générale

MAITRES DE CONFERENCES ET MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mle	AGNIUS-DELORD Claudine	Physique pharmaceutique
	ALARY Josette	Chimie analytique
MM.	AMBLARD Pierre	Dermatologie
	AMBROISE-THOMAS Pierre	Parasitologie
	ARMAND Yves	Chimie
	BEGUIN Claude	Chimie organique
	BELORIZKY Elie	Physique
	BENZAKEN Claude	Mathématiques Appliquées
	BILLET Jean	Géographie
	BLIMAN Samuel	Electronique (ElE)
	BLOCH Daniel	Electrotechnique
Mme	BOUCHE Liane	Mathématiques (CUS)
MM.	BOUCHET Yves	Anatomie
	BOUSSARD Jean-Claude	Mathématiques Appliquées
	BOUVARD Maurice	Mécanique des Fluides
	BRIERE Georges	Physique expérimentale

MM.	BRODEAU François	Mathématiques (IUT B)
	BRUGEL Lucien	Energétique
	BUISSON Roger	Physique
	BUTEL Jean	Orthopédie
	CHAMBAZ Edmond	Biochimie médicale
	CHAMPETIER Jean	Anatomie et organogénèse
	CHIAVERINA Jean	Biologie appliquée (EFP)
	CHIBON Pierre	Biologie animale
	COHEN-ADDAD Jean-Pierre	Spectrométrie physique
	COLOMB Maurice	Biochimie médicale
	CONTE René	Physique
	CROUZET Guy	Radiologie
	DURAND Francis	Métallurgie
	DUSSAUD René	Mathématiques (CUS)
Mme	ETERRADOSSI Jacqueline	Physiologie
MM.	FAURE Jacques	Médecine légale
	GAVEND Michel	Pharmacologie
	GENSAC Pierre	Botanique
	GIDON Maurice	Géologie
	GRIFFITHS Michaël	Mathématiques Appliquées
	GROULADE Joseph	Biochimie médicale
	HOLLARD Daniel	Hématologie
	HUGONOT Robert	Hygiène et Médecine préventive
	IDELMAN Simon	Physiologie animale
	IVANES Marcel	Electricité
	JALBERT Pierre	Histologie
	JOLY Jean-René	Mathématiques Pures
	JOUBERT Jean-Claude	Physique du Solide
	JULLIEN Pierre	Mathématiques Pures
	KAHANE André	Physique générale
	KUHN Gérard	Physique
Mme	LAJZEROWICZ Jeannine	Physique
MM.	LAJZEROWICZ Joseph	Physique
	LANCIA Roland	Physique atomique
	LE JUNTER Noël	Electronique
	LEROY Philippe	Mathématiques
	LOISEAUX Jean-Marie	Physique Nucléaire
	LONGEQUEUE Jean-Pierre	Physique Nucléaire
	LUU DUC Cuong	Chimie Organique
	MACHE Régis	Physiologie végétale
	MAGNIN Robert	Hygiène et Médecine préventive
	MARECHAL Jean	Mécanique
	MARTIN-BOUYER Michel	Chimie (CUS)
	MAYNARD Roger	Physique du Solide
	MICHOULIER Jean	Physique (I.U.T. "A")
	MICOUD Max	Maladies infectieuses
	MOREAU René	Hydraulique (INP)
	NEGRE Robert	Mécanique
	PARAMELLE Bernard	Pneumologie
	PECCOUD François	Analyse (IUT B)
	PEFFEN René	Métallurgie
	PELMONT Jean	Physiologie animale
	PERRET Jean	Neurologie
	PERRIN Louis	Pathologie expérimentale
	PFISTER Jean-Claude	Physique du Solide
	PHELIP Xavier	Rhumatologie
Mle	PIERY Yvette	Biologie animale

MM.	RACHAIL Michel	Médecine Interne
	RACINET Claude	Gynécologie et obstétrique
	RICHARD Lucien	Botanique
Mme	RIANUDO Marguerite	Chimie macromoléculaire
MM.	ROMIER Guy	Mathématiques (IUT B)
	ROUGEMONT (DE) Jacques	Neuro-Chirurgie
	SHAN Jean Claude	Chimie Générale
	STIEGLITZ Paul	Anesthésiologie
	STOEBNER Pierre	Anatomie pathologique
	VAN CUTSEM Bernard	Mathématiques Appliquées
	VEILLON Gérard	Mathématiques Appliquées (INP)
	VIALON Pierre	Géologie
	VOOG Robert	Médecine interne
	VROUSSOS Constantin	Radiologie
	ZADWORNY François	Electronique
	GUITTON Jacques	Electrochimie

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

MM.	BOUDOURIS Georges	Radioélectricité
	CHEEKE John	Thermodynamique
	GOLDSCHMIDT Hubert	Mathématiques
	SIDNEY STUARD	Mathématiques Pures
	YACOUD Mahmoud	Médecine légale

CHARGES DE FONCTIONS DE MAITRES DE CONFERENCES

Mme	BERIEL Hélène	Physiologie
	RENAUDET Jacqueline	Microbiologie
MM.	COULOMB Max	Biologie Animale
	BOUCHARLAT Jacques	Psychiatrie Adultes.

Fait le 16 Novembre 1971

A MES PARENTS

A MES AMIS

Je prie Messieurs D. GAGNAIRE, C. BEGUIN et R. TEOULE qui ont accepté de faire partie du Jury, de croire à l'expression de mes sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur GAGNAIRE qui m'a accueilli dans son laboratoire au Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales et qui m'a guidé dans mon travail, j'exprime ma gratitude.

Je remercie Monsieur NARDIN du service de Chimie Organique Physique au Centre d'Etudes Nucléaires de Grenoble pour les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire réalisés au HA 100.

Je remercie Madame KERVENNAL, Madame DUMAS et Mademoiselle DUPONT qui se sont occupées de la dactylographie de ce texte.

Je remercie enfin tous mes collègues de laboratoire pour leur excellent esprit de coopération.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 1

DERIVES DEUTERIES DU D-GLUCOSE 3

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA DEUTERIATION

I.1. Introduction 4
I.2. Les différentes méthodes d'échange 5

CHAPITRE II : DEUTERIATION EN 2 OU 4

II.1. Principe 15
II.2. Généralités bibliographiques 20
- sur l'amide gluconique 20
- sur l'oxydation 22
II.3. Résultats expérimentaux 33
II.4. Conclusion 42

CHAPITRE III : DEUTERIATION EN 6, 6' ET 1

III.1. Introduction 64
III.2. Résultats expérimentaux. Deutériation en 6, 6' 66
III.3. Deutériation en 1 67

CHAPITRE IV : MONODEUTERIATION EN 6

IV. 1 Introduction 74
IV.2. Généralités bibliographiques 81
- mésylation 81
- photolyse 82
IV.3. Résultats expérimentaux 83
IV.4. Discussion et conclusions 99

CONCLUSIONS GENERALES 104

PARTIES EXPERIMENTALES

V.1. Deutériation en 2 125
V.2. Deutériation en 6, 6' et 1 128
V.3. Deutériation en 6 ou 6' 131

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXE CARBOXYMETHYLGLUCOSES

CHAPITRE I : Introduction 136

CHAPITRE II : LES CARBOXYMETHYLGLUCOSES ET LEURS SPECTRES DE R.M.N.

II.1. Remarques 140
II.2. Généralités bibliographiques 141
II.3. Carboxyméthylation en 3 142
II.4. Carboxyméthylation en 6 144
II.5. Carboxyméthylation en 2 et 3 146
II.6. Carboxyméthylation du Méthyl α-D-glucopyranoside 146
II.7. Conclusions 146

PARTIE EXPERIMENTALE 156

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Dans le but de les utiliser ultérieurement en biosynthèse de la cellulose et dans la synthèse des polysaccharides, nous avons préparé des dérivés du glucose sélectivement deutériés selon des procédés faisant appel en général à des réactions d'oxydo-réduction.

Au début de notre travail, aucune position particulière du glucose ne semblait présenter un plus grand intérêt que les autres. Aussi, avons-nous, dans le cadre de nos recherches, porté notre effort sur la position 2 et la position 4. La description de ce travail fera l'objet de la Première Partie de ce compte-rendu qui en comportera trois plus une annexe. Dès à présent et pour mieux comprendre l'enchaînement de ces différentes parties, nous ferons la remarque suivante : le 2-deutério glucose n'a pas été isolé sous la forme du sucre libre mais sous la forme, simplement, d'un dérivé cristallisé. Cela pour deux raisons principales :

- La première, c'est que du glucose deutérié en 2 a déjà été préparé et utilisé en spectroscopie infra-rouge (1) et que différentes méthodes permettant d'y arriver d'une façon relativement simple sont décrites. Il est cependant important de dire que toutes ne partent pas du glucose ;

- La deuxième, c'est que au cours de l'évolution de notre travail, nous nous sommes aperçus que d'autres positions, en particulier les positions 6 et 1, présentaient plus d'intérêt que les positions 2, 3 et 4. En effet, lors de la biosynthèse de la cellulose bactérienne deutériée, BARNOUD, GAGNAIRE, ODIER et VINCENDON (2) ont montré que les protons liés aux carbones 2 3 et 4 étaient échangés au moins à 40 % dans le milieu nutritif, alors que les protons 6, 6' et 1 ne l'étaient qu'à 10 % seulement.

Les synthèses de 6, 6'-dideutérioglucose et de 1, 6, 6'-trideutérioglucose seront décrites dans la Deuxième Partie de notre compte-rendu.

La Troisième Partie concerne la préparation de glucose monodeutérié en 6 ou 6'. Outre son intérêt en biosynthèse, ce composé doit aussi, par l'intermédiaire d'un dérivé benzylidénique, nous permettre d'identifier de façon certaine les deux sites protoniques non équivalents en 6 ce qui est dans tous les cas une question controversée.

Bien entendu, l'ensemble de ces méthodes de marquage est également valable dans le sens glucose entièrement deutérié-glucose deutérié sélectivement hydrogéné. C'est ce qui nous a fait rechercher des méthodes d'échanges faciles en raison de la cherté du glucose deutérié. Ces méthodes doivent, en outre, partir du glucose et revenir au glucose avec un bon rendement.

Enfin, en Annexe, nous avons consigné les résultats d'un travail préliminaire de préparation de carboxyméthyl glucoses. Ce travail a été réalisé dans le but de trouver une méthode de dosage par R.M.N. du degré de substitution sur chaque position dans les poly et monosaccharides partiellement carboxyméthylés, identique à celles déjà décrites pour les dérivés méthylés et les dérivés acétylés.

DERIVES DEUTERIES DU

D-GLUCOSE

C H A P I T R E I

GENERALITES SUR LA DEUTERIATION

I.1 - INTRODUCTION

La préparation de dérivés deutériés revêt une grande importance dans la chimie des mono et des polysaccharides.

Dans ce chapitre, nous étudierons d'une façon systématique l'ensemble des méthodes de marquage connues ainsi que les deutériations réalisées sur des échantillons de glucose ou pouvant conduire au glucose. En particulier, nous examinerons le problème posé par chacune des positions susceptibles d'être marquées sélectivement sans tenir compte de l'intérêt plus ou moins grand qu'elle peut présenter. Nous décrirons les méthodes et dans la mesure du possible nous donnerons le rendement global de l'ensemble des réactions mises en jeu. Enfin, nous passerons à l'examen de notre propre travail.

Les applications de tous ces dérivés sont multiples. En effet, ils peuvent être par exemple utilisés comme éléments de départ dans la biosynthèse de la cellulose et donner lieu à des études de Résonance Magnétique Nucléaire intéressantes. Par ce moyen, des renseignements essentiels concernant l'organisation structurale des chaînes, le mode de liaison des unités osiques de base, etc..., seront recueillis. La R.M.N. peut, en outre, constituer une méthode de dosage élégante et sûre.

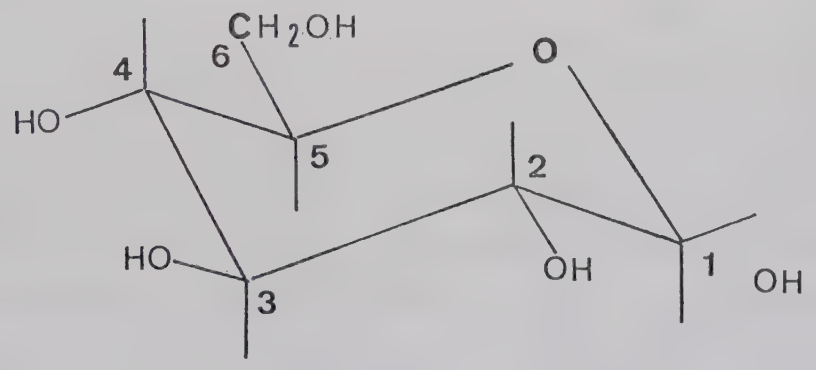
D'autre part, l'ensemble des composés rencontrés, intermédiaires ou résultats de synthèse, forme un stock de produits remarquables par leurs propriétés et par leurs applications possibles dans la chimie des sucres, en biochimie et même en pharmacie. Leur intérêt est en tout cas indéniable pour l'interprétation de mécanismes réactionnels, pour des études de structures,

d'équilibres et de conformations par l'examen et l'analyse des déplacements chimiques et des constantes de couplage en R.M.N. En particulier, il est possible dans le cas des dérivés acycliques de rechercher la disposition des atomes sur la chaîne carbonée et de déterminer l'arrangement qui minimise les interactions stériques entre substituants.

Enfin, dans le cadre de notre laboratoire, la synthèse sur support solide devrait permettre de préparer à plus ou moins brève échéance, des oligosaccharides et même des polysaccharides sélectivement marqués à partir de ces composés modèles.

I.2 - LES DIFFERENTES METHODES D'ECHANGE.

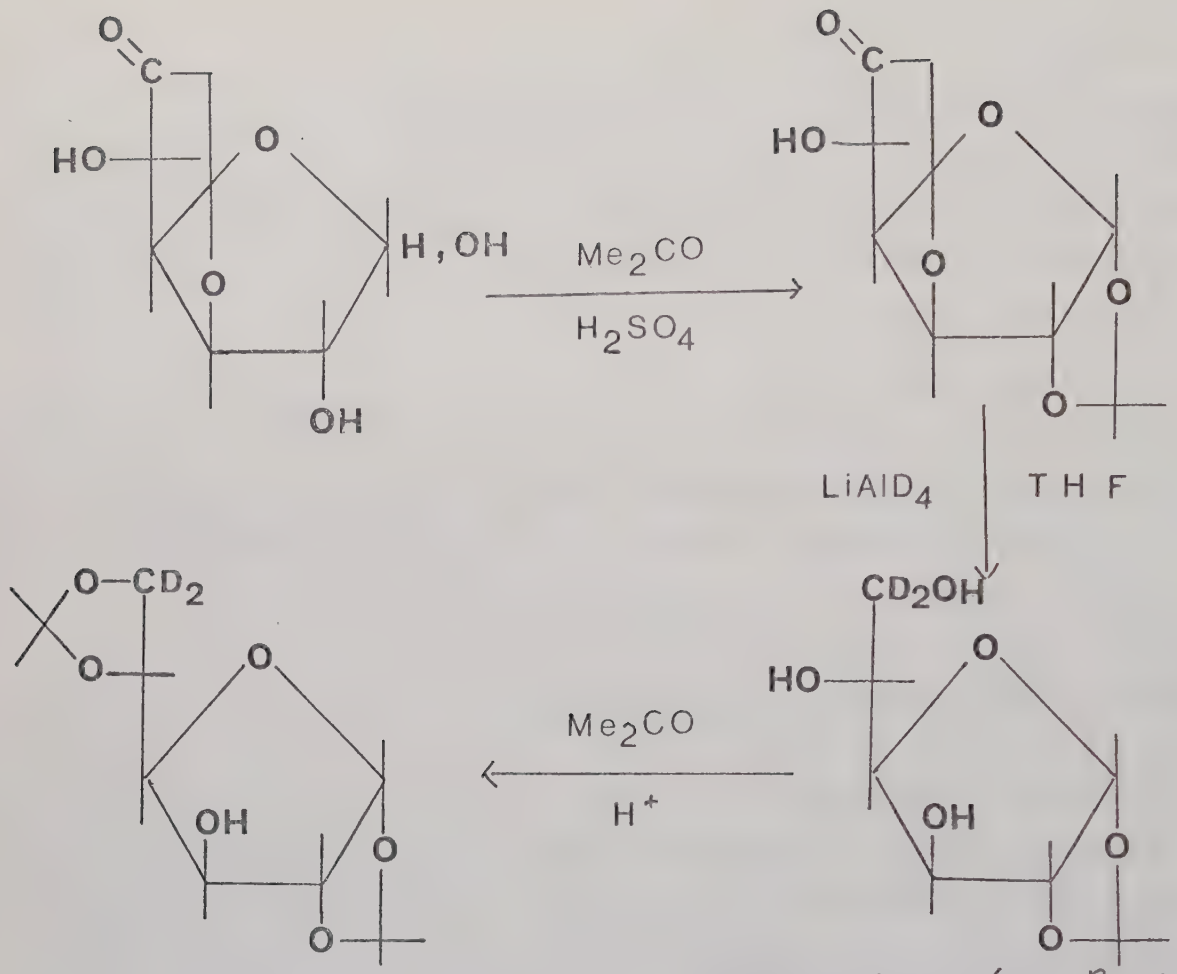
Dans le glucose, unité osique modèle de la cellulose, les atomes qui sont susceptibles d'être marqués correspondent aux hydrogènes portés par les carbones 1, 2, 3, 4 et 6.



Différentes méthodes d'échange relatives à chacune de ces positions ont été décrites :

Pour la position 6 :

R.U. LEMIEUX et J.D. STEVENS (3) préparent le 6,6'-dideutério-1,2;5,6-di-O-isopropylidène-α-D-glucofuranose à partir de D-glucurone (ou glucuronolactone), avec un rendement global de 27 % et selon une méthode déjà décrite par L.N. OWEN et Coll. (4) :



Ensuite, ils passent aux 6,6'-dideutério- α et β -D-gluco-pyranose pentaacétates par hydrolyse et acétylation.

M. VINCENDON, au Centre d'Etudes Nucléaires de Grenoble, a repris cette synthèse. Il utilise le borodeutérure de sodium comme agent deutériant et des résines échangeuses d'ions pour purifier le 6,6'-dideutério-D-glucose qu'il obtient. La deutériation est de l'ordre de 95 %.

D'autre part, CLODE et HORTON (5) ont réussi à monodeutérier la cellulose sur une des positions 6 par réduction au borodeutérure de sodium d'un dérivé 6- aldéhydo obtenu par photolyse d'un composé 6-azido-6-déoxy cellulosique.

Pour la position 3 :

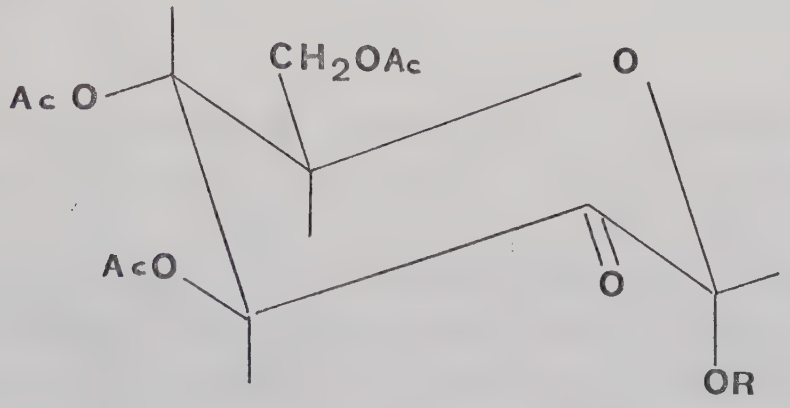
W. SOWA et G.H.S. THOMAS (6) se sont attachés à échanger l'hydrogène porté par le carbone 3. Ils oxydent le 1,2;5,6-di-O-isopropylidène-D-glucose par le mélange D.M.S.O.-Anhydride acétique, et réduisent ensuite par le borohydrure de sodium. Malheureusement, ils obtiennent l'épimère en 3 du produit de départ. Ce n'est

plus alors un dérivé du glucose, mais celui du D-Allose.

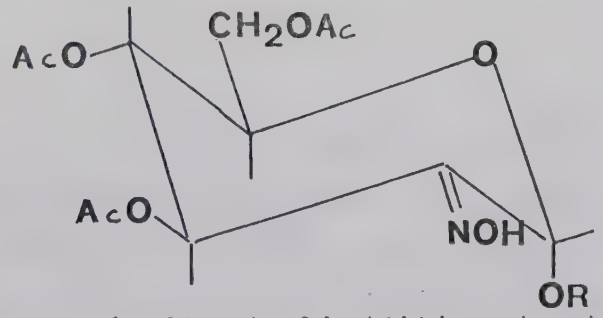
De même, la réduction par l'hydrure de Lithium et d'Aluminium du composé cétonique intermédiaire conduit, d'après P.M. COLLINS (7) à un dérivé du D-Allose avec un rendement de 70 %. Le dérivé du D-glucose n'apparaît que comme produit secondaire avec un rendement de 30 %.

Pour la position 2 :

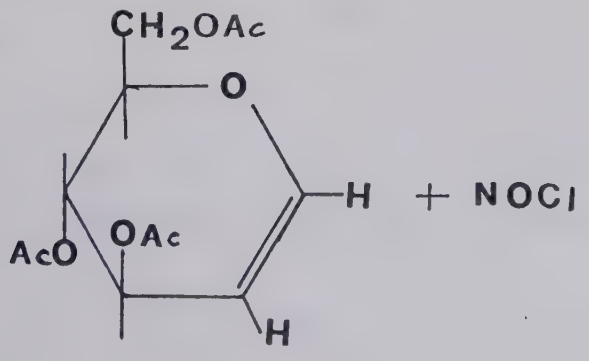
LEMIEUX, SUEMITSU, et GUNNER (8) citent dans une communication l'emploi de borohydrure pour réduire le céto glycoside suivant :



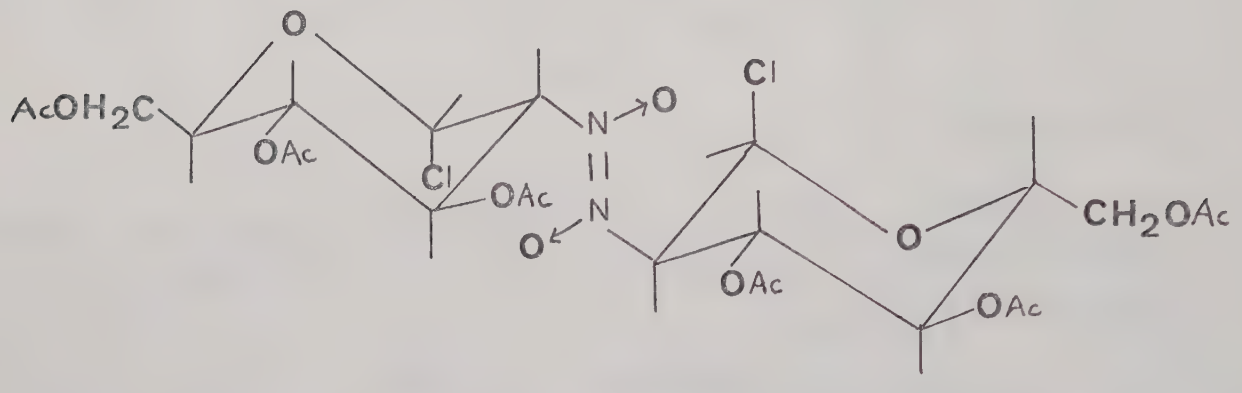
En effet, il doit être possible d'obtenir le 2-deutério-D-glucose après réduction, déacétylation et hydrolyse de ce composé qui est préparé par déoximation d'un 3,4,6-tri-O-acétyl-2-oximino-α-D-arabino-hexopyranoside :



Ce dernier résulte de l'addition de chlorure de nitrosyl au 3,4,6-tri-O-acétyl-D-glucal (9) :



On prépare ainsi un chlorure dimère de 3,4,6-tri-O-acétyl-2-déoxy-2-nitroso-α-D-glucopyranosyl (10) :



Enfin, après déshydrochloration et addition d'alcool, le dérivé 2-oximino est obtenu. Le rendement global de cette série de réactions est de 60 %.

Néanmoins, cette méthode est longue et parfois délicate. ISBELL, FRUSH, WADE, FATIADI (11) d'autre part décrivent la préparation de D-glucose tritié en 2. Ils partent de D-arabino-hexulosonate de sodium qu'ils réduisent par $LiBT_4$. Les deux acides obtenus sont ensuite lactonisés puis réduits par l'amalgame de sodium. Ils synthétisent également par cette méthode le D-mannose-2-t.

Pour la position 1 :

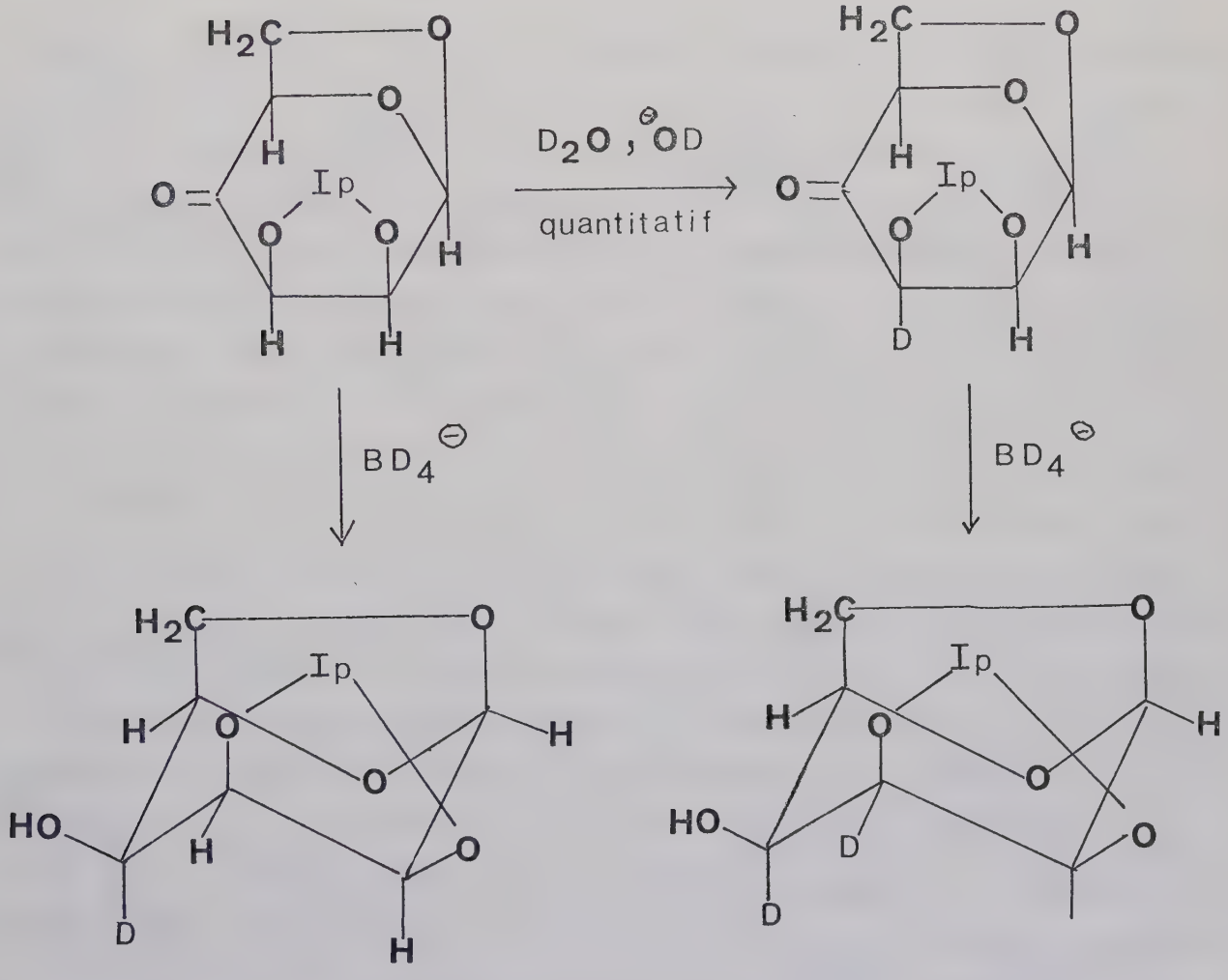
En ce qui concerne l'échange portant sur le carbone 1 du glucose, peu d'exemples sont cités dans la littérature. LEMIEUX (12) dans l'un de ses articles, dit avoir utilisé les α et β -D-glucose pentaacétates deutériés sur le carbone 1, préparés par P. CHU, mais il ne donne aucune référence. Nous pouvons supposer que de tels dérivés ont été obtenus par l'intermédiaire de lactones gluconiques ou d'acide, réduits par les hydrures métalliques, mais il est possible aussi que ce soit par des méthodes moins directes.

VINCENDON au C.E.N.G. a réalisé un marquage qui fait intervenir une oxydation et une lactonisation du glucose. Par ce procédé,

le 1-deutério obtenu présente un pourcentage de deutériation de 90 %.

METHODE PARTICULIERE DE HORTON, JEWELL, JUST et WANDER (13) en ce qui concerne les positions 3 et 4.

HORTON et Coll. ont montré que le 1,6-anhydro-2,3-O-isopropylidène-β-D-lyxo-hexopyranos-4-ulose pouvait présenter un phénomène d'échange énolique, catalysé par une base, de l'hydrogène placé en ∝ de la fonction >C = O.



D'autre part, la réduction au borodeutérure de sodium conduit dans chaque cas au composé marqué en 4. Il est remarquable de noter que le proton porté par le carbone 5 ne subit pas d'échange en raison de l'impossibilité pour une molécule bicyclique de posséder un atome hybridé sous forme trigonale sur une position "tête de pont" (règle de Bredt).

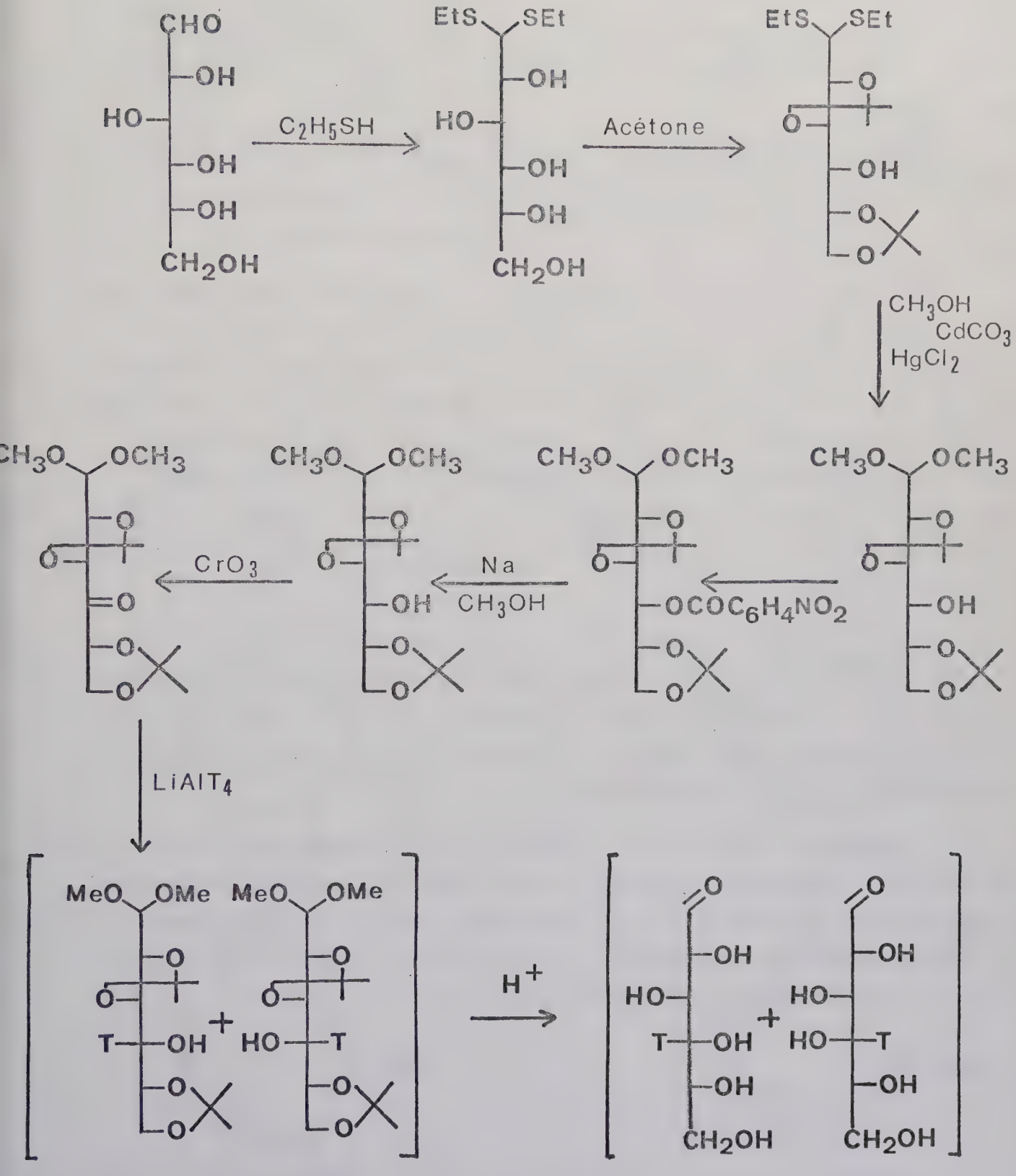
Pour la position 4 :

C'est sur cette position qu'ont été réalisées les plus intéressantes méthodes d'échange.

Pour préparer du glucose et du galactose tritiés en 4, B.D. KOHN et P. KOHN (14), (Tableau I, page 11), synthétisent le diéthyl-dithioacétal-D-glucose à partir de glucose. Le dérivé obtenu réagit ensuite avec l'acétone pour donner un mélange de dérivés isopropylidéniques dans lequel le composé 2,3;5,6-di-O-isopropylidène-diéthyl-dithioacétal-D-glucose prédomine. Ils passent aux diméthyl-acétals correspondants et cristallisent le 2,3; 5,6-di-O-isopropylidène-4-O-para-nitrobenzoyl-diméthyl acétal-D-glucose. Après hydrolyse, le 2,3;5,6-di-O-isopropylidène-diméthyl-acétal est recueilli seul, mais non cristallisé. Ils l'oxydent par le trioxyde de chrome et chromatographient le mélange obtenu sur une colonne de gel de silice. Toutes les fractions qui, en spectrographie Infra-Rouge présentent une absorption dans la région 1705-1725 cm^{-1} (région caractéristique de la fonction cétone) et pas d'absorption dans la région 3590-3650 cm^{-1} (région caractéristique du groupe OH), sont recueillies et réduites par l'hydrure de lithium et d'aluminium tritié. Ils obtiennent deux composés, qu'après hydrolyse et chromatographie sur papier, ils déterminent comme étant le glucose et son épimère sur le carbone 4 (soit le galactose) dans lesquels l'hydrogène du C 4 a été remplacé par un atome de tritium. En effet, le mécanisme de la réduction est tel, que le tritium n'apparaît pas dans le groupe hydroxyle qui demeure inchangé.

En outre, cette réduction a bien porté sur un groupe carbonyle fixé sur le carbone 4. Dans le cas inverse, en effet, des sucres autres que le glucose et le galactose auraient été obtenus.

TABLEAU I


CHO
OH
HO
OH
OH
CH2OH
C2H5SH
EtS
SEt
OH
HO
OH
OH
CH2OH
Acétone
EtS
SEt
O
O
OH
O
O
CH3OH
CdCO3
HgCl2
CH3O
OCH3
O
O
OCOC6H4NO2
Na
CH3OH
OH
CrO3
=O
LiAlT4
MeO
OMe
T
H+
HO

KOHN et KOHN mettent en relief le fait que l'intermédiaire 2,3;5,6-di-O-isopropylidène-D-glucose-diméthyl-acétal peut par cette méthode être préparé aisément et avec un bon rendement. C'est un composé important utilisé pour la préparation de disaccharides.

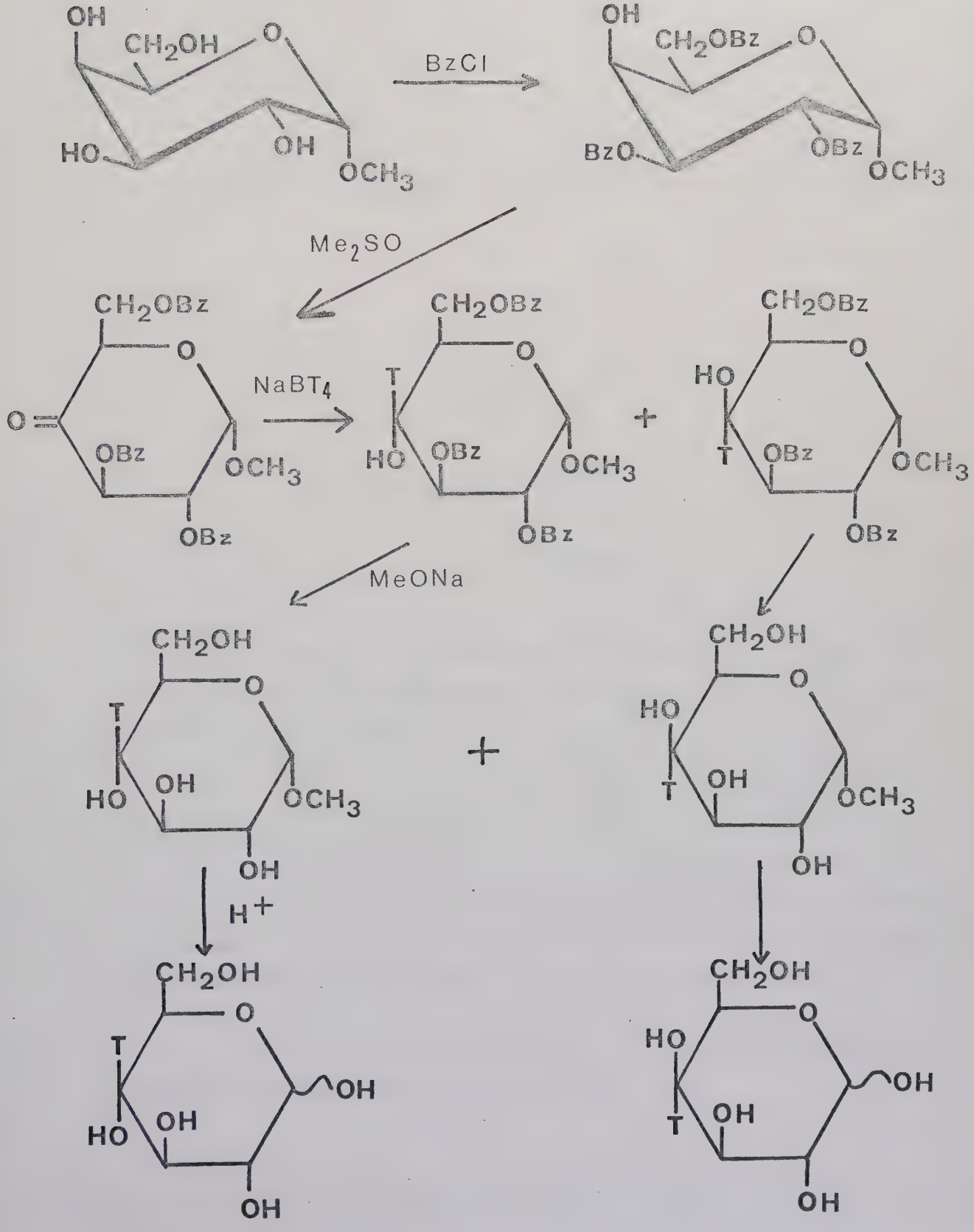
Mais pour aller jusqu'au glucose et au galactose, la méthode est longue (par le nombre des étapes), délicate et de rendement global faible (à cause des pertes par chromatographie). Aussi, une méthode plus directe doit-elle être recherchée.

Un autre procédé a été exposé par O. GABRIEL (15), (Tableau II, page 13). Il part du méthyl ∝ -D-galactopyranoside dans lequel, en raison de la plus faible réactivité des groupes hydroxyles axiaux comparée à celle des groupes équatoriaux, la benzoylation laisse intact le groupe hydroxyle porté par le carbone 4. Après oxydation par le D.M.S.O., réduction au borohydrure de sodium tritié, débenzoylation et hydrolyse acide, le glucose et le galactose tritiés en 4, sont obtenus et identifiés par chromatographie sur papier.

En conclusion, nous constatons qu'aucune des méthodes décrites n'a donné lieu à une préparation systématique des composés étudiés, du fait de leur faible rendement. De plus, elles sont longues, souvent inachevées, ou ne mettent pas en jeu les dérivés qui nous intéressent directement.

Nous avons, dans notre travail, essayé des deutériations portant sur diverses positions. La première que nous envisagerons s'appuie sur une idée de M. le Professeur ANGYAL de l'Université de New-South Wales, Kensington, Australie. Elle fait intervenir des dérivés du glucose sous forme acyclique.

TABLEAU II

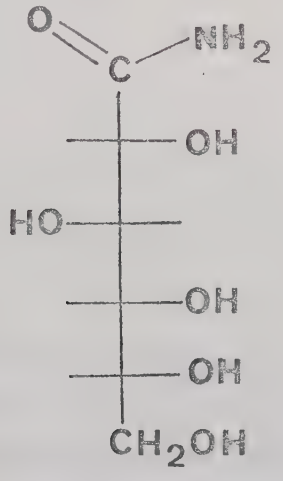


C H A P I T R E II

DEUTERIATION EN 2 ou 4

II. 1. PRINCIPE

Par réaction avec l'ammoniac liquide la γ-lactone de l'acide gluconique s'ouvre et conduit à l'amide suivant :

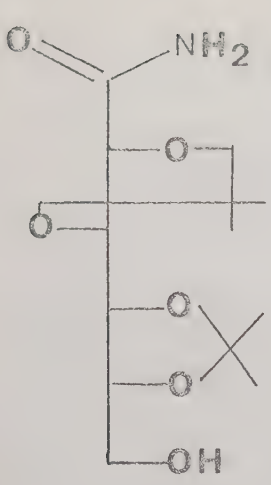


Soumis à l'action de l'acétone cet amide doit donner un mélange de dérivés isopropylidèniques assez semblable à celui obtenu par KOHN et KOHN (14).

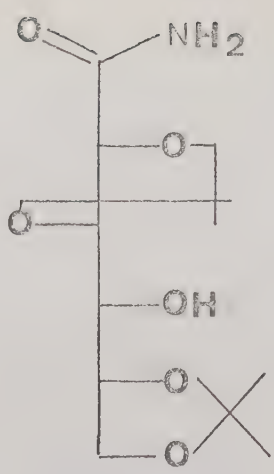
Cependant, si nous prenons pour hypothèses que :

- l'acétalisation est double (avec formation de dérivés di-isopropylidéniques) et que,
- le pontage se fait sous forme de cycles à cinq atomes (plus fréquent que le pontage sous forme de cycles à six atomes ou plus), nous pouvons prévoir que le mélange aura la composition suivante (trois possibilités).

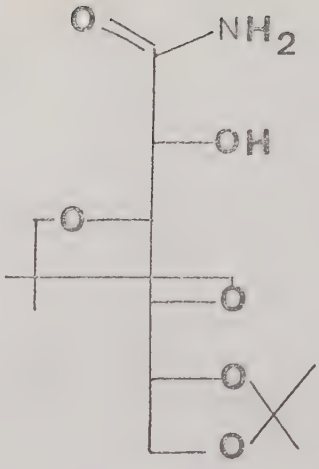
1° IL pourra renfermer une certaine proportion de chacun des trois dérivés ci-dessous :



I



II



III

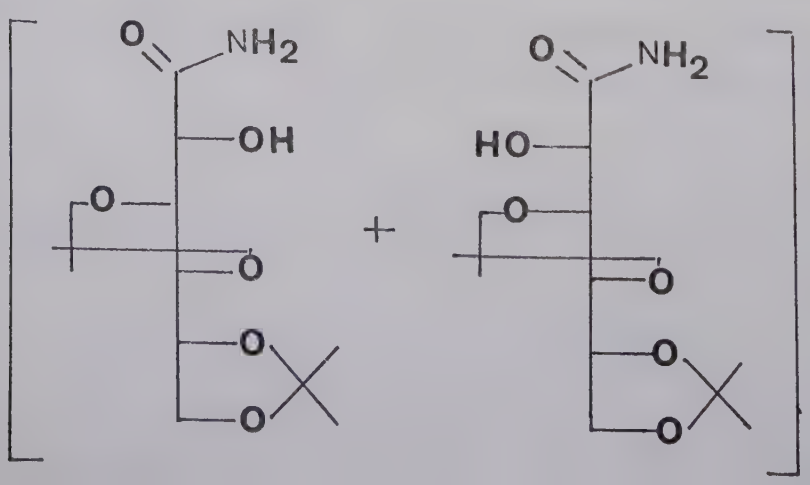
c'est à dire deux composés présentant une fonction alcool secondaire et un composé présentant une fonction alcool primaire.

2° Ou de deux d'entre eux seulement (trois cas).

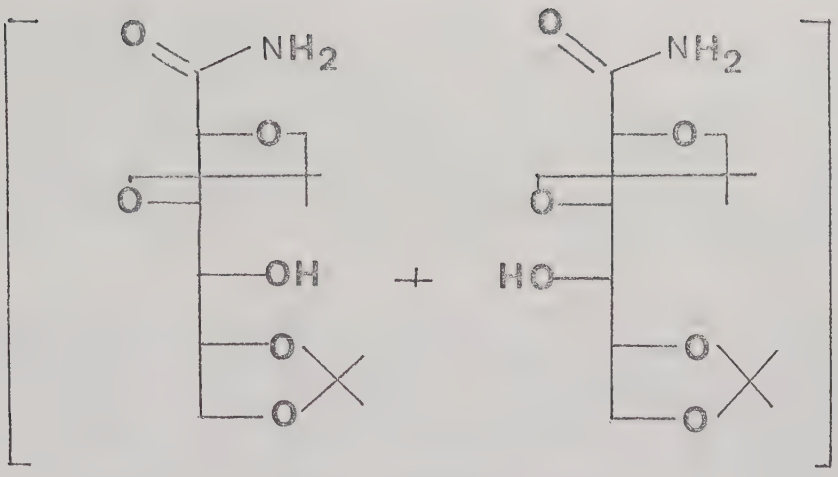
3° Enfin, dernière possibilité il pourra n'en renfermer qu'un seul (trois cas).

Notre travail consistera par conséquent à déterminer les différents composants du mélange, à les identifier et à les isoler par cristallisation. Ensuite sur les formes pures II et III nous effectuerons une réaction d'oxydation pour transformer la fonction alcool en fonction carbonyle. La réduction du composé obtenu, par un hydrure métallique (ou par son homologue deutérié) devrait théoriquement nous conduire dans chaque cas, à deux composés marqués :

- un dérivé du glucose
- un dérivé de son épimère sur les carbones 2 ou 4 soit :



ou



selon la forme envisagée.
Bien entendu, l'épimérisation peut ou non avoir lieu, être totale ou non.

En définitive les produits que nous obtiendrons seront au nombre de quatre, ou de trois ou de deux ou de un.

Après déacétalisation des formes dérivant directement du glucose, passage à l'acide aldonique correspondant puis de nouveau réduction par un hydrure métallique (ou par son homologue deutérié), nous serons en présence de glucose respectivement marqué en 1 et 4 et en 1 et 2 (ou devant un seul de ces composés).

Nous pouvons faire les remarques suivantes :

REMARQUES

1.cette synthèse a pour base de départ le glucose or, la méthode part de la γ lactone de l'acide gluconique.

Cela n'est possible que si l'on connait un procédé permettant de passer du sucre à la lactone et inversement. Ce procédé est connu.

En effet, l'oxydation par l'eau de brome (Br_2H_2O) de la fonction aldéhydique du glucose transforme cette fonction en fonction acide et on obtient une solution d'acide gluconique dans laquelle un équilibre s'établit toujours entre l'acide, la γ et la δ lactones.

Les proportions de chacun de ces composés à l'équilibre varient avec la température, la concentration, le solvant et les caractéristiques propres de l'acide (16).

Ainsi si l'on évapore une solution aqueuse d'acide gluconique à une température inférieure à 25°C, l'acide cristallise. Aune température légèrement supérieure la δ lactone cristallise. Enfin à une température encore supérieure c'est au tour de la γ lactone.

La formation des lactones peut en outre être facilitée par catalyse acide, par déshydratation à l'aide d'un solvant approprié ou par amorçage au moyen d'un germe cristallin (dans le cas de solution saturée). De plus il est intéressant de noter que la δ lactone se forme généralement plus vite que la γ lactone.

Inversement il est possible de réduire les lactones pour obtenir le sucre correspondant. Plusieurs méthodes sont connues (17).

- par l'amalgame de sodium en milieu acide (18)
- par les hydrures métalliques. Dans ce cas c'est la solubilité de la lactone que l'on veut réduire qui détermine le choix de l'agent réducteur. D'une façon générale on emploie l'hydrure de lithium et d'aluminium en présence d'un solvant organique anhydre et le borohydrure de sodium en présence d'eau. (19).

Les rendements sont bons si les conditions expérimentales sont soigneusement sélectionnées.

- par hydrogénation catalytique en présence d'oxyde de platine (20).

2. L'action de l'acétone sur l'amide de l'acide gluconique n'est décrite nulle part dans la littérature. Cette action doit par conséquent, être étudiée qualitativement (pour identifier les composants du mélange obtenu) et quantitativement (pour avoir le meilleur rendement). Pour préciser la position du groupe hydroxyle laissé libre, la R.M.N est l'outil indispensable (28,29,30,31,32).

- 3. Elle concerne l'oxydation du groupe hydroxyle libre. Une grande partie de notre travail a consisté d'abord, établir la bibliographie complète de toutes les méthodes connues, puis à expérimenter les procédés qui paraissaient s'appliquer le mieux au problème avant d'en retenir un.

- 4. Pour la réduction de la fonction carbonyle crée lors de la phase précédente il semble s'avérer indispensable d'utiliser le borohydrure de sodium (21,16,54,55,56).

Ce réactif est en effet très pratique pour la réduction du groupe carbonyle des aldéhydes et des cétones mais non pour celle du groupe carbonyle des acides carboxyliques et de leurs dérivés fonctionnels (en particulier les amides) (22).

Un éventuel déblocage du carbone 1 ne se pose donc pas.

D'autre part selon la position de la fonction carbonyle la réduction conduit théoriquement :

- à un dérivé du glucose
- à un dérivé de son épimère en 2 ou en 4.

Bien entendu il n'est pas possible de connaitre pour l'instant la part qui revient à chacun d'eux, car toutes les combinaisons sont réalisables.

Ainsi il se peut que seul un des deux dérivés apparaisse . Dans le cas où il s'agirait d'un des épimères la méthode envisagée s'avèrerait caduque, tout au moins dans l'optique étudiée.

-5. ENfin après hydrolyse acide libérant le produit réduit des ponts isopropylidèniques,traitement par l'anhydride nitreux dans l'acide acétique cristallisable conduisant de l'amide à l'acide gluconique, et réduction par l'hydrure de lithium et d'aluminium, on aboutit aux sucres libres - glucose et épimère - ou à l'un d'entre eux.

A ce stade l'échange des atomes d'hydrogène (dans le cas du D-glucose non marqué et traité respectivement par $NaBD_4$ et $LiAlD_4$) ou des atomes de deutérium correspondants (cas du D-glucose traité par $NaBH_4$ et $LiAlH_4$) sur les carbones 4 et 1 ou 2 et 1 aura été réalisé.

II. 2. GENERALITES BIBLIOGRAPHIQUES

Nous aborderons dans cette partie les étapes principales de notre travail sous la forme de développements théoriques et généraux.

1. Généralités sur l'amide gluconique

Il existe plusieurs préparations de ce composé. Weerman le synthétise facilement en faisant passer du gaz ammoniac sec dans une solution de γ lactone dans l'alcool absolu (23).

"Dès la température ordinaire l'anneau lactonique s'ouvre et l'amide à peu près insoluble dans l'alcool absolu, précipite. C'est une substance bien cristallisée qu'on peut recristalliser dans l'alcool faible".

En outre il cite une autre méthode qui consiste à partir du gluconate de calcium qui est, dans un premier stade, décomposé par l'acide oxalique, puis dans un deuxième temps, traité par l'ammoniaque.

L'amide précipite.

Dans toutes ces méthodes il signale que le sel d'ammonium correspondant peut se former par saponification, ce qui, notamment fait diminuer avec le temps le pouvoir rotatoire de l'amide.

Kiliani le prépare comme produit caractéristique à partir des acides issus de l'hydrolyse de cyanhydrines (24).

Glattfeld et Mac Millan (25) quant à eux, placent simplement la lactone dans l'ammoniac liquide. L'amide se forme très rapidement par évaporation de l'ammoniac. Il est ensuite recristallisé.

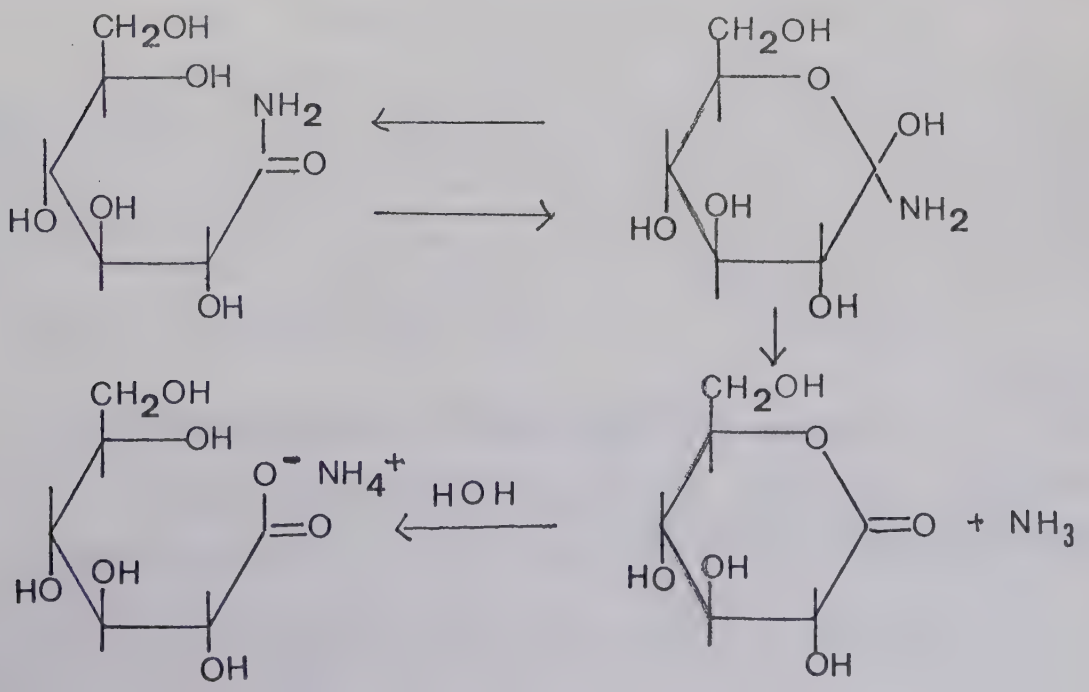
Rien dans leur exposé ne signale la formation éventuelle d'un sel d'ammonium par hydrolyse. De même rien dans l'article de Komatsu et Hudson (26) consacré au pouvoir rotatoire des amides de plusieurs sucres. Pourtant à cette occasion ils énumèrent une série de règles sur le pouvoir rotatoire de ces composés.

Il faut attendre 1958 pour voir WOLFROM, BENNETT, et CRUM (27) , reprendre la remarque de WEERMAN sur la mutarotation des solutions d'amides, et essayer d'expliquer le phénomène. Ils arrivent aux conclusions suivantes :

- toute présence de groupes hydroxyles dans des solutions d'amides aldoniques accèlère le phénomène d'hydrolyse et par conséquent l'instabilité des amides.

- le phénomène de mutarotation est catalysé par les acides et les bases (surtout celles-ci) mais aussi par des traces de métaux ou d'oxydes métalliques. Le produit final est le sel d'ammonium. Cependant, l'addition à la solution d'un peu d'acide chlorhydrique 0,008 N ralentit le phénomène.

- l'hydrolyse doit, selon eux,se faire suivant un mécanisme du type :



En conclusion pour obtenir des amides aldoniques purs , ils préconisent de procéder à une recristallisation dans le di-O-méthyl-1,2-éthane-diol ou éther diméthylique de l'éthylène glycol.

2. Généralités sur l'oxydation.

Dans le paragraphe que nous allons développer maintenant et qui concerne l'oxydation de groupes hydroxyles libres et isolés dans un sucre bloqué, nous retiendrons particulièrement le rôle du DMSO (diméthylsulfoxyde), qui par ses propriétés chimiques a donné naissance à plusieurs méthodes d'oxydation. Celles-ci sont générales et sont relatives aussi bien aux dérivés des sucres qu'aux alcools, aux nucléotides et nucléosides, auxcétènes, aux benzylamines, aux sulfides, aux acétates de quinols, aux halogénures, aux époxydes, aux tosylates et aux thiols (33).

A. OXYDATION CATALYTIQUES

a). Cas du Platine/oxygène

C'est HEYNS qui en 1935 lors de la synthèse de l'acide L-ascorbique, montra qu'une oxydation sélective des fonctions hydroxyles des sucres était possible (34). Il généralisa la méthode qui ressemble par le procédé et l'appareillage à une hydrogénation catalytique.

Pour expliquer ces faits deux hypothèses ont été avancées :

- la première fait appel à un mécanisme d'auto-oxydation. L'oxygène est activé par le platine et il se forme un péroxyde intermédiaire :

$$RCH_2OH + Pt/O_2 \longrightarrow R\text{-}\underset{\displaystyle OOH}{\underset{|}{CH}}\text{-}OH$$

qui se décompose pour donner :

$$R\text{-}\underset{\underset{OOH}{|}}{CH}\text{-}OH \longrightarrow RCHO + H_2O_2$$

soit, ici un aldéhyde et de l'eau oxygénée.

- la seconde décrit une déshydrogénation pure et simple

$$RCH_2OH + Pt \longrightarrow RCHO + Pt\text{-}H_2$$

Le platine fixe l'hydrogène. En fait, le catalyseur activerait l'hydrogène du substrat, et cet hydrogène activé serait capté par l'oxygène jouant le rôle d'accepteur. Il y aurait alors déplacement de l'équilibre et formation d'eau.

D'une façon générale, par ce procédé :

- les alcools primaires sont oxydés en aldéhydes ou en acides, et les alcools secondaires en cétones.

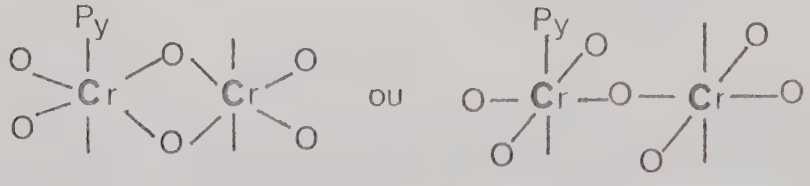
D'autre part, si l'on modifie les conditions de réaction, on peut arriver à rendre la méthode très sélective. Alors :

- les groupes hydroxyles primaires sont oxydés préférentiellement aux groupes hydroxyles secondaires.
- les groupes axiaux sont oxydés plus vite que les groupes équatoriaux, cela en raison de la plus grande accessibilité de l'hydrogène équatorial par rapport à l'hydrogène axial. En effet, des études de mécanismes ont montré que lors des oxydations catalytiques c'est l'hydrogène qui est attaqué plutôt que l'hydroxyle.

b). Cas du trioxyde de chrome.

Une autre méthode, semblable, mais qui a donné de mauvais rendements dans le cas qui nous intéresse, fait

appel au trioxyde de chrome CrO_3 (35,36) que l'on utilise en général avec la pyridine avec qui il forme des complexes du type :



Ces complexes peuvent attaquer un groupe hydroxyle pour former un ester chromique qui se décompose ensuite pour donner une cétone ou un aldéhyde. (37,38).

C'est une méthode d'oxydation douce. L'attaque, comme dans le cas précédent, à lieu par l'arrière. Aussi, peut-on la considérer comme une déshydrogénation.

Enfin les groupes sensibles aux acides (par exemple lesponts isopropylidéniques) ou aux bases (benzoates), les doubles liaisons, les thio-éthers demeurent intacts après la réaction (le pouvoir donneur de tous ces groupes ne pouvant concurrencer celui de l'azote trivalent envers CrO_3).

B. OXYDATIONS PAR LE D.M.S.O.

a). Le DMSO et sa structure

La structure du DMSO peut se représenter de la façon suivante :

$$(CH_3)_2 \; S = O \longleftrightarrow (CH_3)_2 \; \overset{+}{S} - \overset{-}{O}$$

I II

La structure I doit son existence à la capacité des orbitales 3d du soufre d'accepter une paire d'électrons supplémentaires (ici les électrons p de l'oxygène). Il est vrai que l'on discute encore aujourd'hui pour savoir quelle orbitale hybride pourrait représenter le mieux la structure du DMSO (33,39).

Cependant ilsemble acquis que la liaison S-O est bien semi-polaire.

b). Pouvoir oxydant

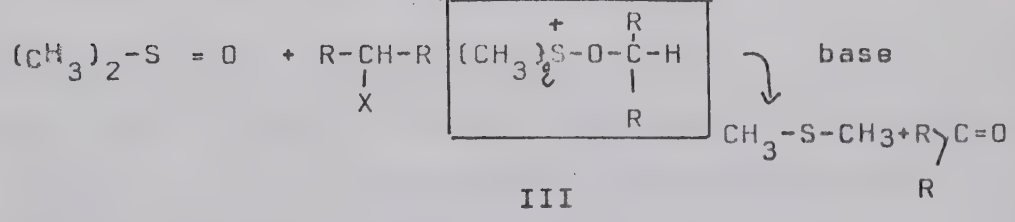
Le pouvoir oxydant du DMSO tient à son comportement de nucléophile.

Dans tous les cas, il entraine la formation intermédiaire d'un sel de diméthyl-alkoxy sulfonium :

Selon la nature du substrat, on peut envisager deux schémas réactionnels :

Schéma A

Schéma B



III

- le schéma A fait intervenir une espèce électro-

phile E (dont nous verrons des illustrations par la suite), qui est ensuite déplacéepar le substrat ici un alcool, pour former l'intermédiaire III.

- le schéma B fait appel, à un groupe partant X (Cl, Br, I) qui est déplacé par le DMSO agissant comme nucléophile, donnant naissance à l'intermédiaire III, soit directement par un mécanisme SN_2 pour les uns, soit par un mécanisme à la fois uni et bi moléculaire pour les autres, soit encore par une réaction de substitution-élimination.

Dans le cas qui nous intéresse c'est à dire dans le cas de l'oxydation de groupes hydroxyles isolés, en général difficiles à oxyder, plusieurs méthodes ont été envisagées:

La première est celle de PFITZNER-MOFFAT ou méthode DMSO + DCC (DCC = dicyclohexylcarbodiimide) (40,41,42).

c). D.M.S.O. + D.C.C.

Mécanisme. On fait réagir généralement sur l'alcool (primaire ou secondaire) une solution de DMSO + DCC avec de l'acide phosphorique (donneur de protons) ou du trifluoroacétate de pyridinium.

Le DMSO peut être remplacé par du tétra méthylènesulfoxyde et le DCC, par de l'isopropylcarbodiimide.

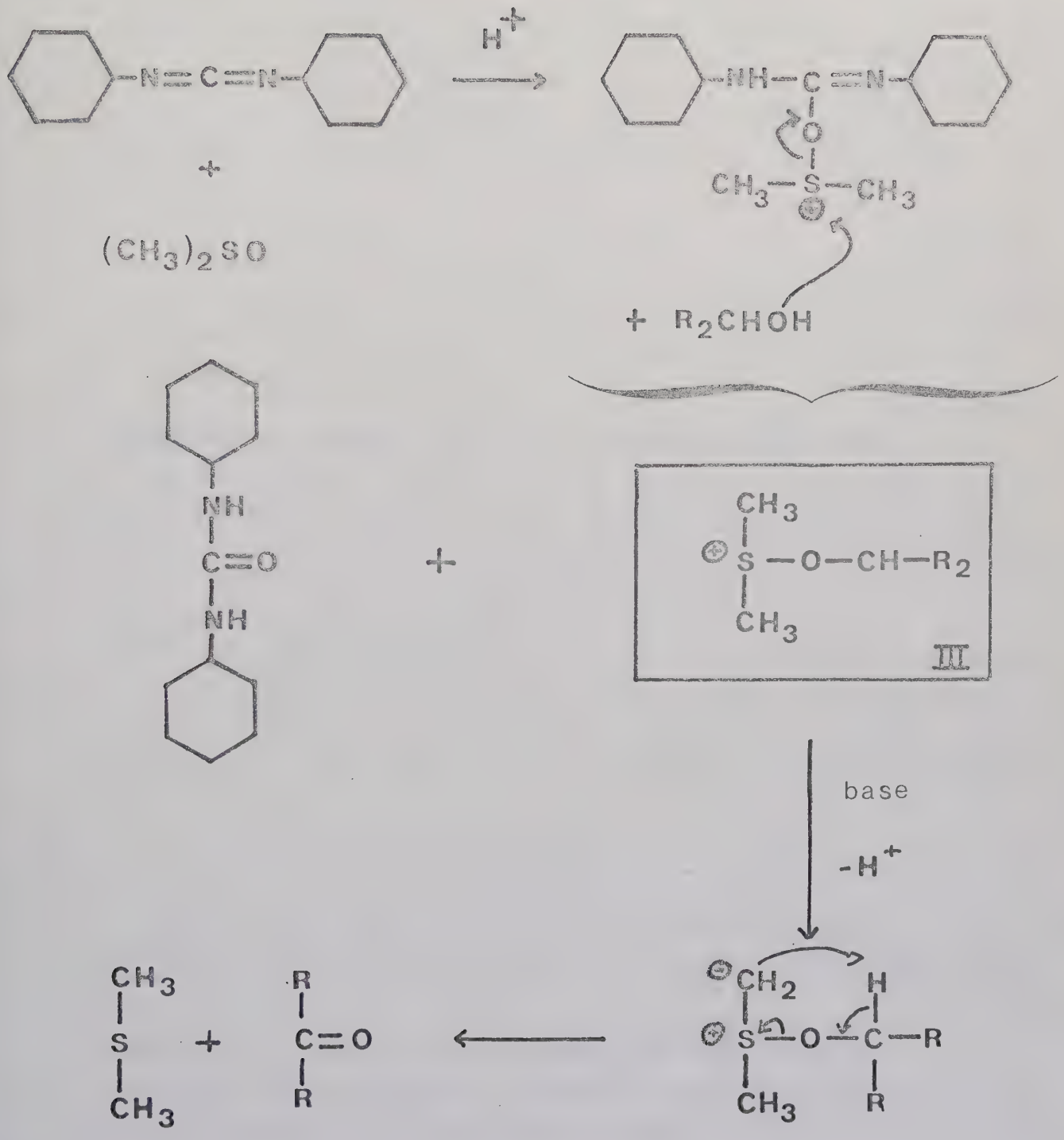
On envisage le schéma réactionnel suivant (Tableau III, page 27).

IL y a d'abord activation du DMSO par le DCC, catalysée par un acide. Dans cette réaction E = DCC, tandis que le DMSO représente le nucléophile.

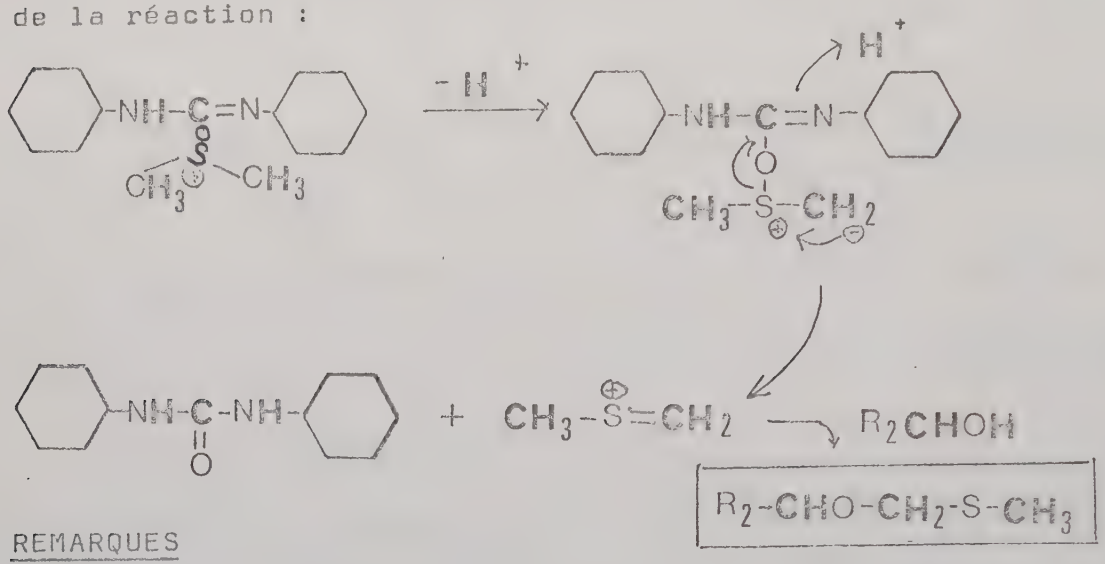
Le composé obtenu réagit avec un alcool pour donner l'intermédiaire III. C'est un sel de diméthylalkoxysulfonium. En outre on obtient la N, N' d icyclohexylurée.

Sous l'action d'une base, il se forme ensuite un carbanion qui se réarrange selon un mécanisme intramoléculaire cyclique (il y a échange d'hydrogène intramoléculaire), et qui donne le diméthyl sulfure, ainsi que le composé carbonylé attendu.

TABLEAU III



Le produit secondaire R_2 -CHO-CH_2-S-CH_3 qui se forme dans certain cas (mais toujours en faible quantité), provient de la réaction :



REMARQUES

Les groupes tosyle, hydroxyle (provenant d'alcool tertiaire), sulfonate, les fonctions amines ne sont pas touchés par les conditions de cette oxydation qui agit surtout sur les groupes hydroxyles équatoriaux.

. C'est une méthode d'oxydation douce.

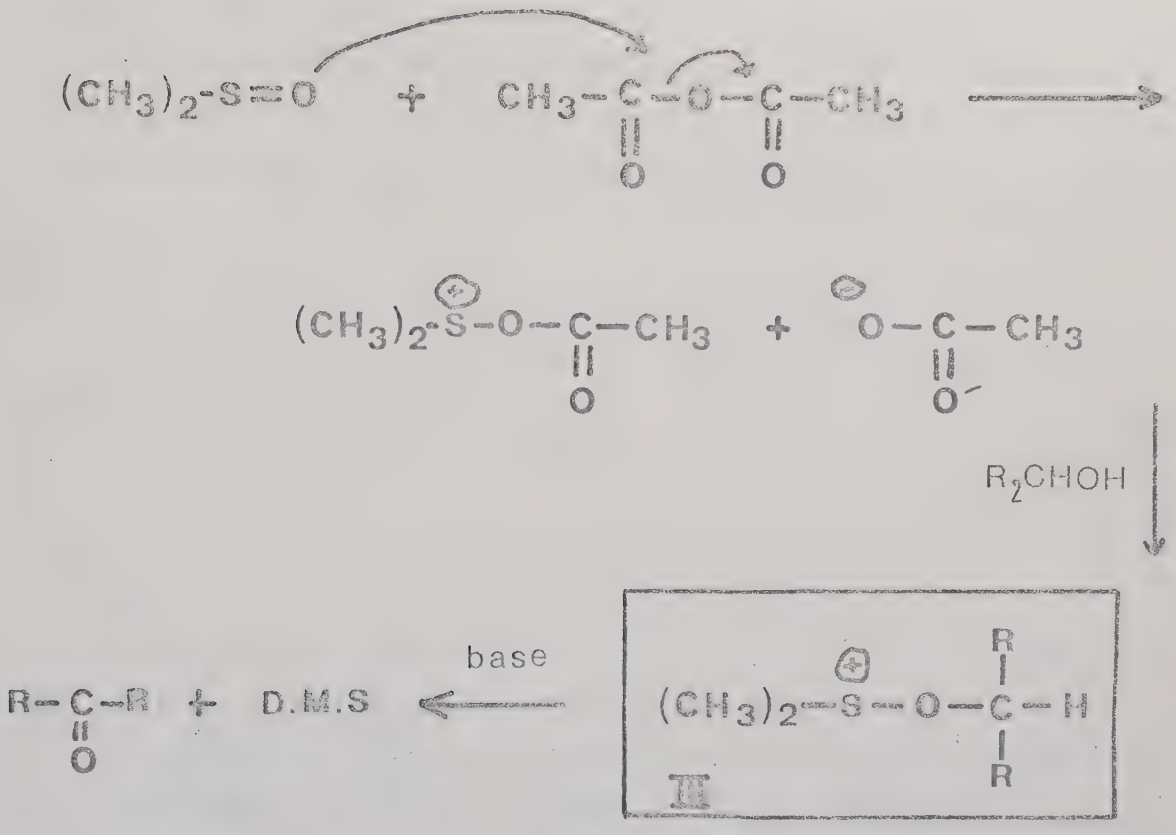
. Dans le cas des sulfonates une épimérisation peut avoir lieu, dans le sens de la conformation la plus stable. On passera par exemple d'une position axiale à une position équatoriale.

d). DMSO + ANHYDRIDE ACETIQUE (43,6,15,44).

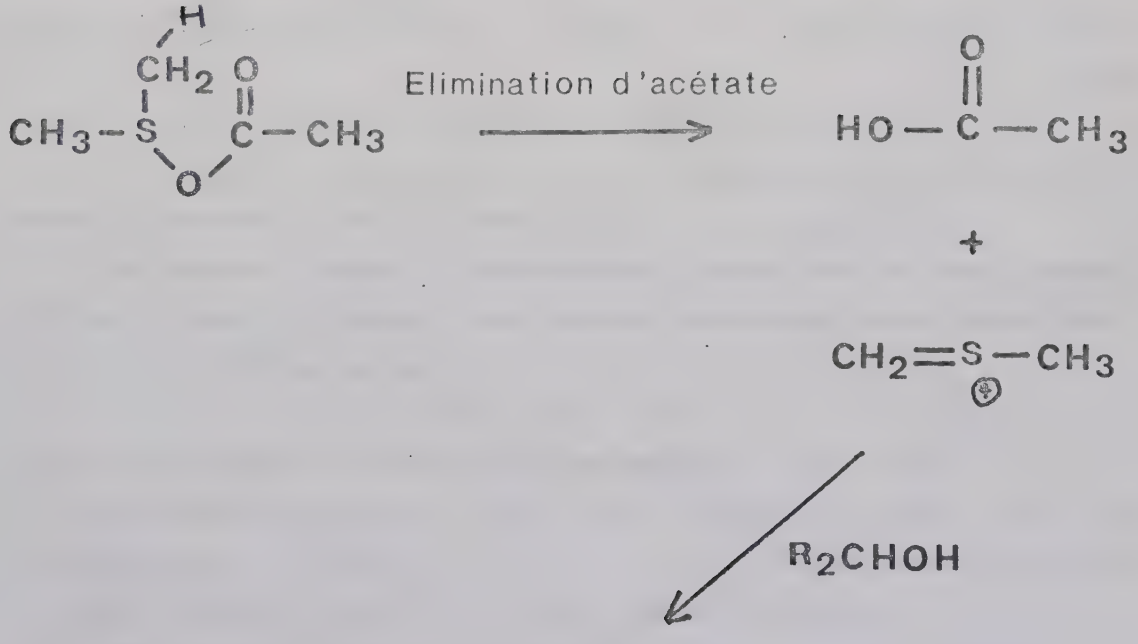
Cette méthode s'est avérée meilleure que la précédente en présence de groupes hydroxyles difficiles à atteindre.

Le mécanisme est semblable à celui qui a été décrit dans le cas général (voir le schéma réactionnel de principe A) où E représente l'anhydride acétique . (tableau IV, page 29).

TABLEAU IV



Produits secondaires :



La présence de produits secondaires comme l'éther de thiométhoxy méthyl constitue certainement un inconvénient majeur. Toutefois il peut être minimisé en procédant comme Godman et Horton à une évaporation à basse température du mélange réactionnel (45,46).

Inversement à ce qui se passe dans la méthode de Pfitzner et Moffat ce sont les groupes hydroxyles axiaux qui sont le plus facilement oxydés. Cette différence de comportement est due à la dimension des premiers intermédiaires qui réagissent avec l'alcool.

e). D.M.S.O + P_2O_5 (47)

Cette méthode n'a été experimentée que dans un nombre restreint de cas. Aucun mécanisme n'est proposé.

Cependant du fait que P_4O_{10} est un anhydride, on peut penser que la réaction a lieu selon le schéma général A où E représente l'anhydride phosphorique.

D'une façon générale, c'est une méthode qui est employée lorsque celle de Pfitzner et Moffat se révèle inefficace.

Dans le cadre de son utilisation on a pu montrer que de nombreux groupes :

sulfonyloxy, acétoxy, benzoyloxy, isopropylidène, benzylidène, éthylidène, méthoxyle, nitrate, acétamido, ainsi que les liaisons glycosidiques avec des substituants :

nucléosidique, phénolique, alkyle, thioacétalique , sont stables vis à vis des réactants.

Dans tous les cas où l'oxydation risque de dégrader les composés traités, une telle protection peut-être très intéressante.

L'équipe ONODERA et al. a en outre avancé que l'oxydation est la plus efficace quand elle a lieu en présence de N,N diméthyl formamide, environ 3 ou 4 équivalents molaires de DMSO et 1,5 à 2,0 équivalents molaires de pentaoxyde de phosphore. (48).

C. OXYDATIONS PAR RuO_4.

C'est une méthode excellente quand elle peut-être utilisée.

Elle a lieu en deux étapes (49).

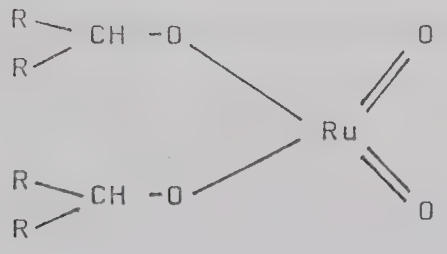
1°. Une étape de préparation de l'oxydant à partir de dioxyde de Ruthénium :

$$RuO_2 \cdot 2H_2O + 2NaIO_4 \longrightarrow RuO_4 + 2NaIO_3 \cdot 2H_2O$$

2°. Une étape d'oxydation de l'alcool

$$RuO_4 + 2RR'CHOH \longrightarrow RuO_2 + 2H_2O + 2RR'CO$$

avec l'intermédiaire :



De la combinaison de ces deux étapes plusieurs avantages peuvent être tirés :

- rendement presque quantitatif en produit oxydé
- utilisation de traces seulement de dioxyde de ruthénium
- gain de temps
- destruction des impuretés.

PRINCIPE DE LA METHODE

Quand un alcool en solution dans le tétrachlorure de carbone (un des rares solvants à ne pas réagir violemment avec RuO_4) est traité par le tétroxyde de Ruthénium, la réaction d'oxydation a lieu presque instantanément. Du dioxyde de Ruthénium (noir) précipite. Lorsque la réaction est complète

ce qui intervient au bout de quelques minutes, on filtre, on évapore et le produit oxydé est recueilli avec un rendement excellent.

Remarque. Le dioxyde qui se forme pendant la réaction d'oxydation peut être reconverti en tétroxyde en présence de métapériodate de sodium (oxydant)

APPLICATIONS

Par cette méthode les aldéhydes sont oxydés en acides, les alcools en aldéhydes ou cétones, les oléfines en aldéhydes, les amides en imides et les éthers en esters. (51).

Les groupes protecteurs comme les groupes méthyliques, les benzoates, les benzylidènes et isopropylidènes demeurent intacts après attaque par le tétroxyde de Ruthénium. (52).

Les groupes hydroxyles axiaux ou équatoriaux sont oxydés avec la même facilité. (53).

II. 3. RESULTATS EXPERIMENTAUX

La γ lactone de l'acide gluconique ne se trouvant pas dans l'arsenal des produits commerciaux, nous sommes partis de la δ lactone. En effet, l'action de l'ammoniac liquide sur l'une ou l'autre conduit au même produit soit l'amide de l'acide gluconique(I)

Le rendement est mauvais car le sel d'ammonium correspondant se forme en quantité non négligeable et paradoxalement surtout à la recristallisation de l'amide.

Pour éviter cet inconvénient nous avons tout d'abord insisté sur les critères de pureté de la lactone de départ en la recristallisant ; puis nous avons distillé l'ammoniac liquide utilisé afin d'opérer dans des conditions d'humidité restreinte.

En fait le principal facteur de la formation du sel d'ammonium, réside non pas dans les conditions opératoires mais dans les conditions de cristallisation. En effet l'amide est insoluble dans l'alcool mais est soluble dans l'eau qui favorise d'autre part l'hydrolyse de l'amide. Tout revient par conséquent au choix du solvant.

GLATTFELD et MAC MILLAN (25) préconisent un mélange à 10% d'eau seulement. Mais il est alors difficile de solubiliser l'amide (même à chaud).

Nous pouvons aussi employer l'éther diméthylique de l'éthylène glycol. Dans ce cas également l'amide n'est pas très soluble.

Nous avons alors utilisé le procédé suivant : par chauffage nous solubilisons l'amide dans une quantité minimum d'eau, puis par addition d'éther diméthylique nous amenons la solution à saturation. L'amide cristallise sous forme de cristaux blancs brillants répondant aux données de la littérature.

Son spectre de R.M.N (fig. 1 page 44) confirme bien sa structure (chaîne droite) bien qu'il soit difficile d'attribuer à chaque proton un pic ou un groupe de pics.

Nous avons alors soumis l'amide à l'action de l'acétone et de plusieurs catalyseurs (notamment le chlorure de zinc et le sulfate de cuivre anhydres). Seul le chlorure de zinc (employé avec de l'acide phosphorique) nous a permis de préparer un mélange avec un rendement acceptable. A partir de ce mélange, un produit cristallise dans le chloroforme. Ce fait indique que ce produit est soit pur, soit majoritaire Or nous avions supposé que trois composés principaux pouvaient constituer le mélange. Le problème par conséquent se simplifie Il reste cependant à déterminer quel est ce produit. A cet effet nous avons réalisé le spectre de R.M.N du composé (II) recristallisé et séché dans une étuve à vide (fig. 2,3 pages 46et48).

Autres caractéristiques :

- point de fusion : 148°C
- $(\alpha)_D^{20}$: + 31 (c=2, $CHCL_3$)
- rendement : 50%

Notons que la R.M.N confirme bien la diisopropylidénation. Sur quelles positions ? A ce stade il n'est pas possible de conclure.

Nous avons aussi réalisé le spectre I.R. du produit (fig. 4, page 50).

Il montre que le groupe hydroxyle resté libre est un groupe d'alcool secondaire, pouvant donner lieu à des liaisons hydrogènes intramoléculaires.

Le premier fait exclu la possibilité d'une diisopropylidénation en 2,3 et 4,5 laissant libre le groupe hydroxyle primaire. D'autre part si nous écartons tous les cas où les ponts isopropylidéniques se présentent sous forme de cycles supérieurs à cinq atomes, il ne reste plus que deux hypothèses. Le groupe hydroxyle se trouve soit sur le carbone 2 soit sur le carbone 4.

Des modèles stéréochimiques de ces deux composés, qui présentent la même formule brute soit $C_{12}H_{21}O_6N$, ont été construits. Dans chaque cas des liaisons hydrogènes intramoléculaires peuvent être envisagées.

Enfin la microanalyse du produit recristallisé et séché à l'aide d'un dessicateur à vide, s'est avérée conforme aux données théoriques, sur la base de la formule brute précédente :

	Teneurs exprimées en % du produit brut			
	C %	H %	O %	N %
Trouvées	52,39	7,73	35,03	4,92
Calculées	52,36	7,63	34,9	5,09

Une façon de déterminer la position (en 2 ou en 4) du groupe hydroxyle libre consiste à poursuivre la synthèse jusqu'à ce que l'ensemble des renseignements recueillis permette de conclure.

Une méthode d'oxydation utilisant le D.M.S.O a donc été recherchée.

Nous avons successivement employé le mélange D.M.S.O. + P_2O_5, puis le mélange D.M.S.O. + Anhydride Acétique.

C'est avec cette dernière méthode que les meilleurs résultats ont été obtenus.

Nous procédons de la façon suivante :
le mélange réactionnel est suivi en chromatographie analytique en phase gazeuse, à partir de prélèvements faits à intervalles réguliers pour déterminer l'évolution de l'oxydation jusqu'à la disparition du produit de base.

En réalité les chromatogrammes obtenus se sont révélés trop complexes pour être utilisables. Nous avons également effectué le même contrôle en chromatographie sur couches minces : là encore le grand nombre de tâches révélées a rendu difficile l'approche du problème.

Ces inconvénients nous ont amené à procéder avant toute analyse en C.P.V. et en C.C.M à l'élimination des principales impuretés résultant de l'oxydation.

Le mélange réactionnel a été lyophilisé et distillé vers 60°C et sous vide poussée. Les chromatogrammes que l'on obtient alors sont effectivement meilleurs ; ils présentent : (fig. 5 page52)

- les pics des solvants
- deux pics importants vers 212 et 223°C
- enfin quelques pics mineurs

Ces résultats nous ont encouragé à poursuivre la purification du mélange. A cet effet, pour séparer ses différents constituants, nous avons effectué une chromatographie sur colonne de gel de silice, en utilisant le benzène et l'éther comme éluants. L'élution est commencée au benzène.

Ensuite l'éther est progressivement ajouté.

Chaque fraction recueillie est analysée par chromatographie sur couches minces, puis évaporée. Les résultats sont décevants. Lors du passage dans la colonne une dégradation intervient et nous ne récupérons que des traces de composés inconnus (même après élution au méthanol). Nous avons alors expérimenté d'autre support, par exemple du silicate de magnésium, mais sans résultat notable.

Il est possible qu'une dégradation du produit oxydé intervienne du fait de son instabilité dans le mélange. Pour éviter ce risque nous avons effectué la réduction immédiatement après l'oxydation et l'évaporation des solvants. En fait là encore l'essai s'est révélé infructueux.

Nous avons également essayé de recueillir le produit oxydé pur à partir de chromatographie sur plaques de gel de silice (épaisseur 0,30 mm). Le mélange est déposé sur la plaque selon une fine bande à l'aide d'une micropipette et élué par l'éther pur. Une plaque de référence révélée par le mélange méthanol-eau-acide sulfurique montre cinq tâches au moins.

Après avoir divisé les plaques en bandes correspondant aux produits àrecueillir d'après cette plaque de référence, chaque bande est détachée et mise en suspension dans l'alcool méthylique. Le produit qu'elle renferme est récupéré après élution et évaporation du méthanol.

Les résultats analysés par I.R, R.M.N, et C.C.M sont encourageants. Cependant la technmique est laborieuse.

Dans la masse des publications se rapportant à une oxydation semblable d'autres méthodes sont décrites. Le

mélange réactionnel est purifié par :

- chromatographie sur colonne avec de l'acide silicique comme adsorbant
- distillation sous vide (0,05 - 0,1 mm de Hg) vers 40°C.
- lyophilisation
- extraction au chloroforme ou à l'éther.....

Dans notre cas nous avons essayé de mettre au point une méthode qui soit un compromis de ces différentes techniques. Le mélange résultant de l'oxydation est dans un premier temps lyophilisé. Ensuite le résidu est soumis à une distillation moléculaire, puis enfin chromatographié sur une colonne de gel de silice à grand débit. Le produit obtenu montre en C.P.V un bon chromatogramme. (fig. 6 page 53).

Nous vérifions que le pic qui apparait n'a rien de commun avec le produit de départ. En effet si nous injectons dans la colonne un peu de ce dernier avec du produit provenant de l'oxydation, nous voyons effectivement apparaitre un deuxième pic (fig. 7, page 53).

Par conséquent l'oxydation a bien eu lieu et un spectre I.R (fig. 8, page54) le confirme. Sur ce spectre nous voyons nettement que le pic caractéristique du groupe carbonyle s'est élargi et même qu'un épaulement vers 1650 cm^{-1} est visible (caractéristique du groupe carbonyle des cétones).

A ce stade nous avons considéré terminée la phase de purification du produit oxydé. Il se présente dous l'aspect d'un sirop jaune pâle qui ne cristallise pas et que nous avons réduit par le borohydrure de sodium.

La réaction se fait à basse température (0-5°C) Elle a été expérimentée sur une période de temps s'étendant de 30 à 90 mn.

A l'issue du traitement, après extraction, séchage et évaporation un produit cristallise. Les cristaux sont recristallisés et déshydratés. Ils présentent les caractéristiques suivantes :

- point de fusion : 147 °C
- $(\alpha)^{20}_{D}$: + 31
- C.P.V. : (figure 9, page 55)

le chromatogramme du composé réduit présente une excellente résolution. Un pic est nettement visible. Il est précédé d'un épaulement qui caractérise le produit oxydé précédent non réduit. Nous pouvons le vérifier en procédant à une injection des deux composés simultanément (fig. 10, page 55).

L'oxydo-réduction (et la R.M.N le confirme) nous ramène donc au produit issu de l'acétalisation de l'amide gluconique.

Le fait de retrouver, le produit (II) est important car il indique qu'il n'y a pas eu épimérisation en proportion non négligeable lors de la phase réactionnelle.

En ce qui concerne la position laissée libre lors de l'acétalisation (sur le carbone 2 ou sur le carbone 4 d'après nos hypothèses) il n'est pas encore possible de conclure.

Nous avons alors effectué la réduction du produit oxydé par le borodeutérure de sodium, en espérant obtenir davantage de renseignements, grâce notamment à la R.M.N.

Nous opérons dans les mêmes conditions de température et de temps que précédemment et le produit deutérié

(III) cristallise de façon identique. Après recristallisation et dessication il présente un point de fusion de 147°C (contre 148°C au produit non deutérié).

En R.M.N. les spectres (Fig. 11 et 12, pages 56 et 58) montrent clairement que le doublet dédoublé à 4,9 ppm est devenu un doublet et que le doublet à 4,7 ppm a disparu. Ce fait en lui-même peut déjà donner une idée de la façon dont l'échange a lieu. En effet, seul, un composé ayant un groupe hydroxyle libre sur le carbone 2 peut expliquer de telles modifications.

Si l'échange portait sur le carbone 4, il n'y aurait aucune raison pour le doublet à 4,7 ppm disparaisse.

Afin de préciser ce dernier point nous avons irradié le proton correspondant au doublet à 4,9 ppm. Dans ce cas, la partie du massif central située vers les champs faibles est modifiée, ce qui est en accord avec l'hypothèse d'un groupe hydroxyle libre en 2. Le doublet dédoublé ou le triplet attribué alors au proton porté par le carbone 4 doit se transformer en un doublet par suppression du couplage J_{3-4}.

En fait, la modification qui intervient n'est pas aussi simple et il n'est pas encore possible d'identifier chaque proton.

Nous avons alors acétylé l'alcool obtenu après (57) action de l'acétone. Nous préparons ainsi un produit (IV) qui cristallise et qui présente les caractéristiques suivantes :

- point de fusion : 154°C ;
- spectres de R.M.N. : (Fig. 13, 14 pages 60 et 62).

Après examen de ces spectres, la structure du composé préparé ne laisse plus aucun doute. Il s'agit bien du

2-O-acétyl - 3,4 ; 5,6-di-O-isopropylidène-D-gluconamide. Son spectre cependant n'a pas été résolu entièrement, notamment en ce qui concerne les protons des carbones 5 et 6.

Néanmoins le marquage réalisé est satisfaisant et constitue une bonne introduction à la synthèse du glucose deutérié en 2 et à celles de l'acide et de l'amide gluconiques correspondants.

Dans cette optique il est nécessaire de rappeler que HURD et SOWDEN (58) ont décrit une méthode permettant de passer de la fonction amide à la fonction acide en faisant réagir le dérivé dans l'acide acétique cristallisable avec de l'anhydride nitreux.

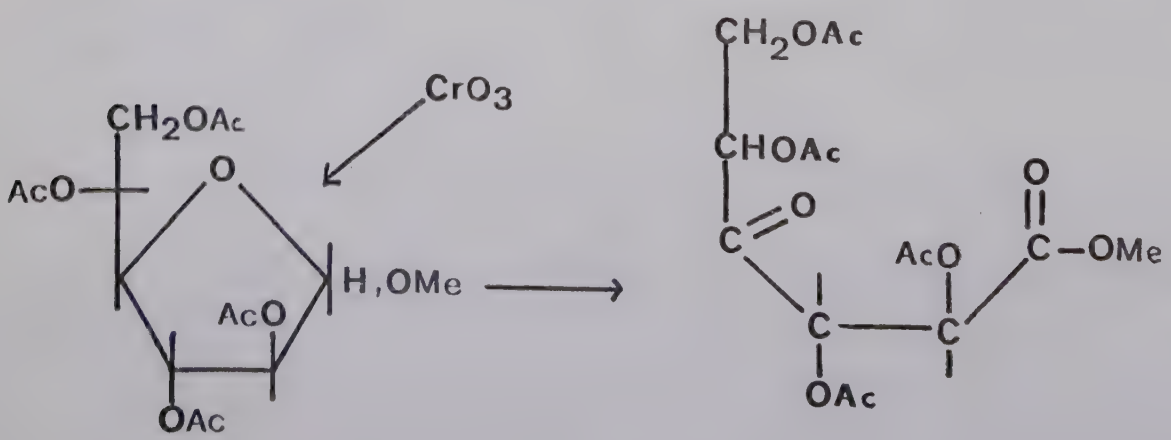
D'autre part la réduction de l'acide gluconique en glucose (59) se fait aisément par une méthode d'hydrogénation en présence d'oxydes de platine et en milieu neutre ou légèrement acide (dans le cas d'une hydrogénation sélective) ou par $LiAlD_4$ (cas d'une deutériation sélective).

II. 4. CONCLUSION

Les raisons qui nous ont conduits à ne pas isoler le 2-deutério-glucose à partir du dérivé acyclique cristallisé ont déjà été abordées dans l'introduction. Nous ne les reprendrons pas ici mais elles nous ont amenés à préparer des échantillons de glucose deutériés en 1 et en 6,6'. Ces synthèses seront décrites dans le chapitre III.

Enfin pour compléter l'étude consacrée à la deutériation en 2 et en 4 il est indispensable de citer une nouvelle possibilité d'échange sur les carbones 1 et 4 du glucose d'après un schéma réactionnel proposé par ANGYAL et JAMES (60)

Partant du glucose ils préparent les méthyl α et β glucofuranosides en le faisant réagir dans une solution méthanolique à 1% d'acide sulfurique. Après acétylation complète, le mélange est oxydé au trioxyde de chrome dans l'acide acétique cristallisable, et donne le composé suivant :



ce composé ne cristallise pas. Il s'agit du 2,3, 5,6-tétra-O-acétyl -D-glycéro- L - thréo - 4 - hexulosonate.

C'est un produit à chaine droite que par une série de réactions de réduction, nous avons la possibilité de marquer sur les carbones 1 et 4 (ou séparément).

Figure N° 1. SPECTRE DE R.M.N de l'amide de l'acide gluconique (I)

- Spectre réalisé à 60 mégacycles par seconde dans l'eau lourde.

On Observe :

- à 5,0 ppm : le massif caractéristique des protons des groupes OH, NH_2.
- à 4,7 ppm : un doublet pouvant correspondre au proton porté par le C_2.
- à 4,45ppm : un massif ressemblant à un triplet et correspondant au proton du C_5.
- à 4,1 ppm : un massif où apparaissent les autres protons de la chaine.

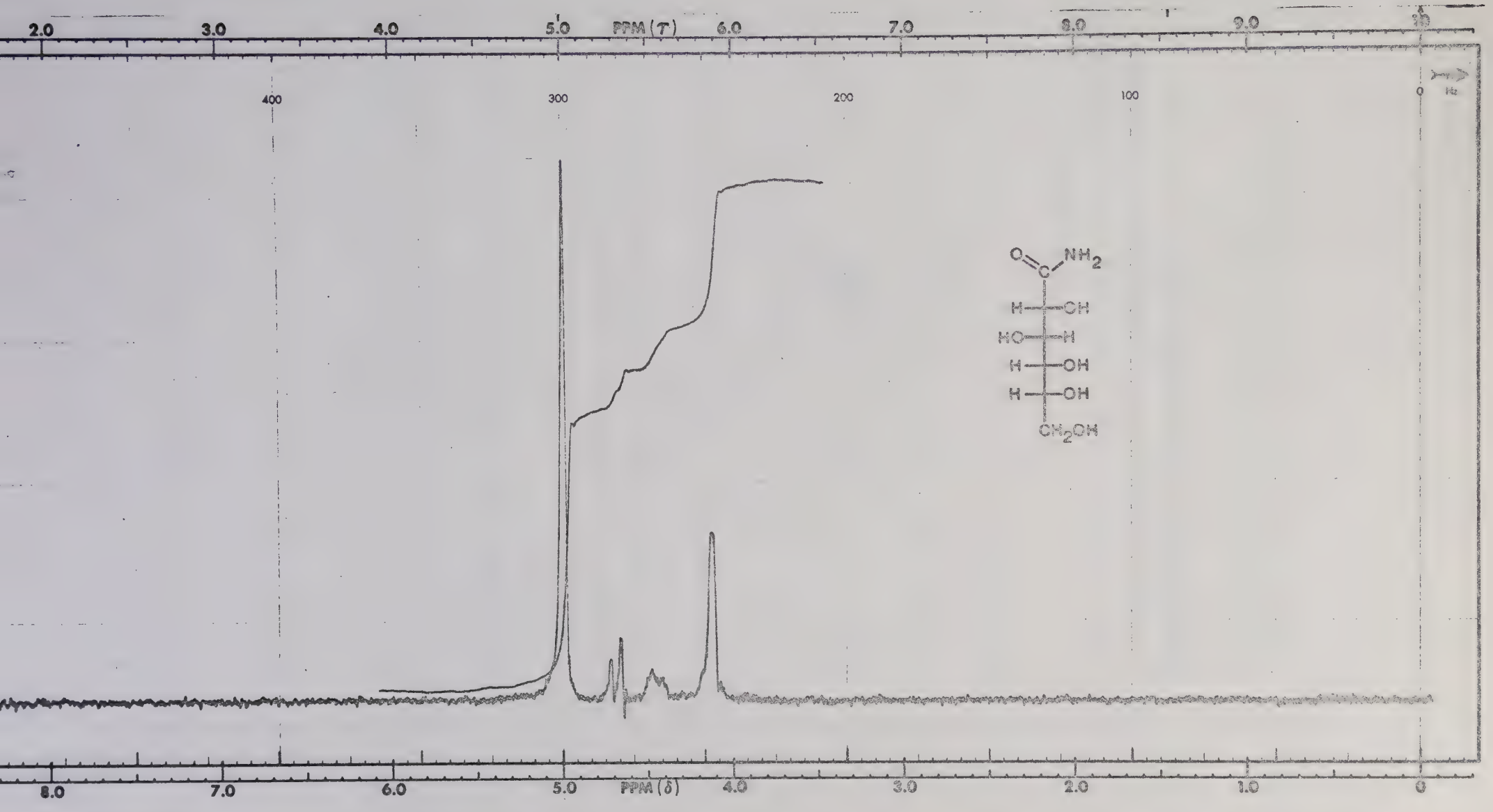

2.0
3.0
4.0
5.0
PPM (T)
6.0
7.0
8.0
9.0
400
300
200
100
0
Hz
O
NH2
C
H
OH
HO
H
H
OH
H
OH
CH2OH
8.0
7.0
6.0
5.0
PPM (δ)
4.0
3.0
2.0
1.0
0

Figure N° 2. SPECTRE DE R.M.N. du di-O-isopropylidène -D-gluconamide cristallisé (II).

- Spectre réalisé à 60 mégacycles / s dans la pyridine deutériée (à laquelle quelques gouttes d'acide trifluoroacétique ont été ajoutées)

On observe :

- à 1,35 ppm : un massif correspondant aux protons des groupes méthyles des ponts isopropylidèniques
- entre 4,0 et 5,0 ppm : une série de pics dont un doublet, correspondant aux protons de la chaine à l'exclusion des protons du groupe NH_2
- à 5,43 ppm : le pic caractéristique du groupe hydroxyle
- à 7,2 et 7,55 ppm : les protons de la pyridine
- à 8,0 ppm : les protons du groupe NH_2

Note : Le déplacement par l'acide du signal du groupe hydroxyle permet à la fois de mettre en évidence l'existence du doublet et de conclure à une diacétalisation.

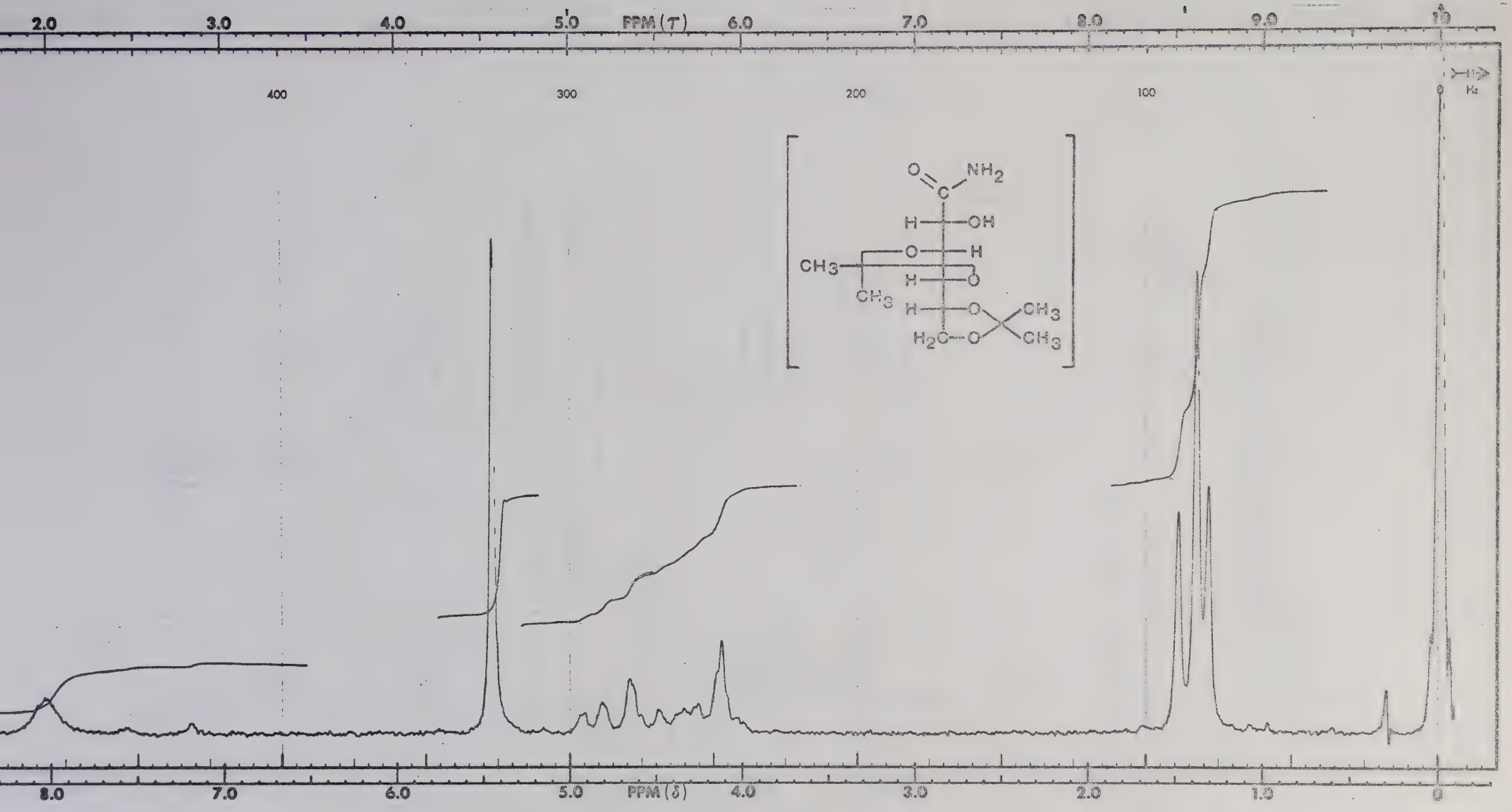

2.0
3.0
4.0
5.0
PPM (τ)
6.0
7.0
8.0
9.0
10
400
300
200
100
0
Hz
O
NH2
C
H
OH
O
H
CH3
CH3
H
O
H
O
CH3
H2C
O
CH3
8.0
7.0
6.0
5.0
PPM (δ)
4.0
3.0
2.0
1.0
0

Figure N° 3. SPECTRE DE R.M.N. du di-O-isopropylidène-D-gluconamide cristallisé (III).

- Spectre réalisé à 100 mégacylces / s dans la pyridine deutériée.

On observe :

Nous retrouvons encore les mêmes caractéristiques que précédemment. Mais de nouveaux détails apparaissent. Notamment :

- Un doublet dédoublé à 4,9 ppm : proton porté par le C_3
- Un doublet à 4,7 ppm : proton 2
- Un triplet à 4,5 ppm : proton 4

En outre le pic à 8,1 ppm s'est dédoublé.

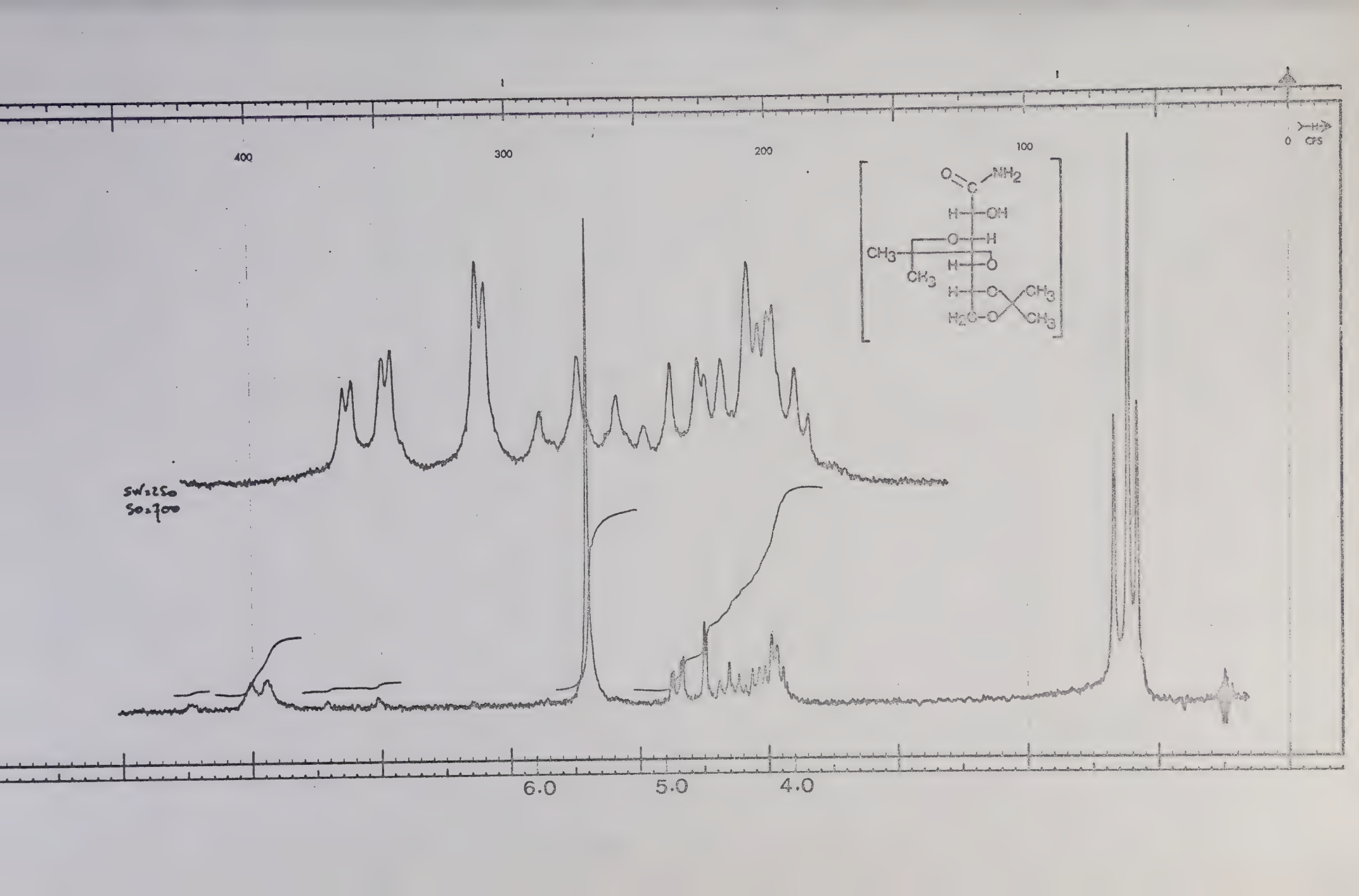

400
300
200
100
0 CPS
SW=250
SO=700
6.0
5.0
4.0

Figure N° 4. SPECTRE I.R. du di-O-isopropylidène -D-gluconamide cristallisé (II)

-Spectre réalisé à l'aide d'un spectro-photomètre double faisceau. Les cellules utilisées sont à fenêtres de chlorure de sodium (0,1 mm) Le solvant est le chloroforme.

On observe :

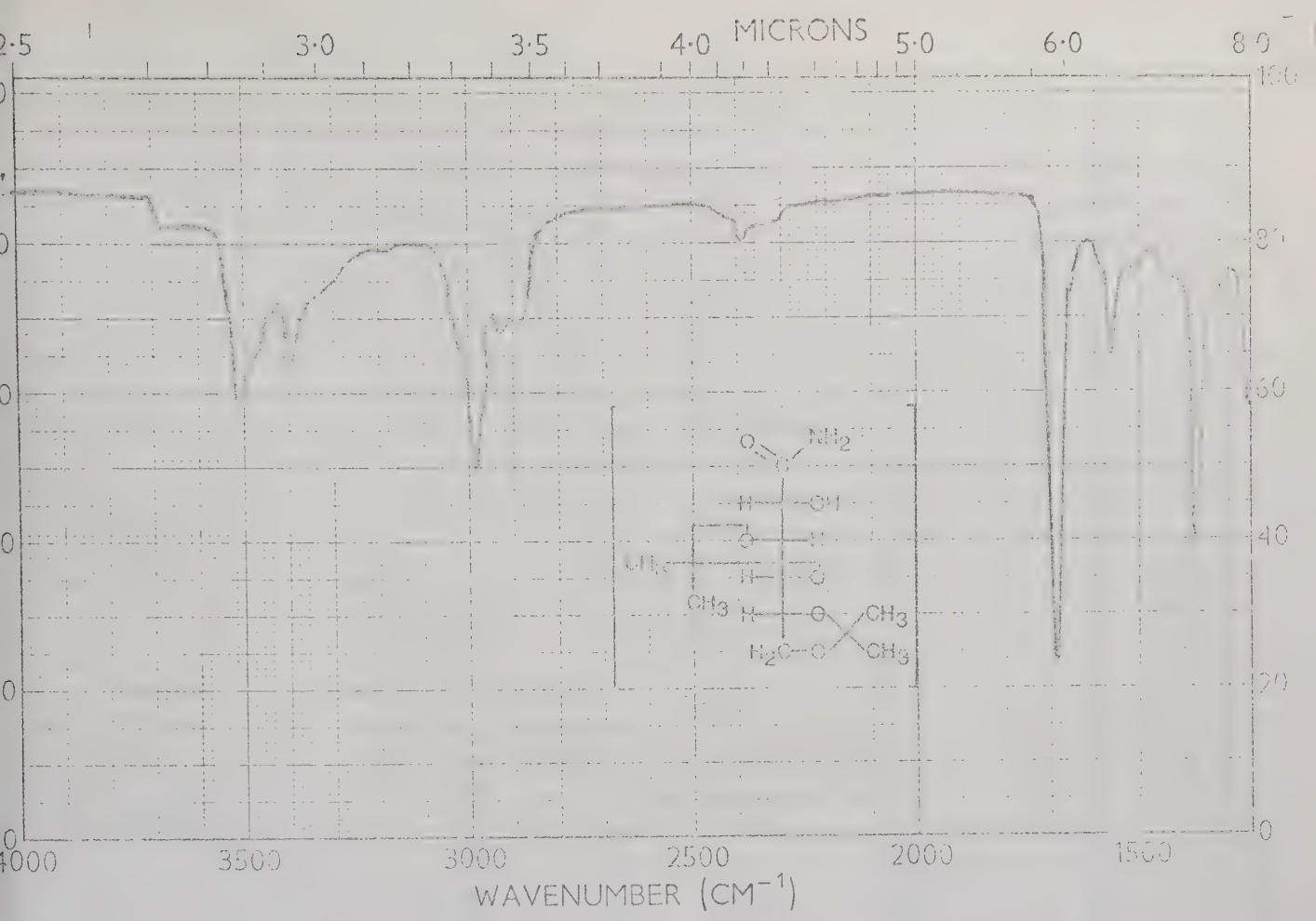
Des bandes à 3520 cm^{-1} : caractéristique de ν OH lié (liaison intramoléculaire)

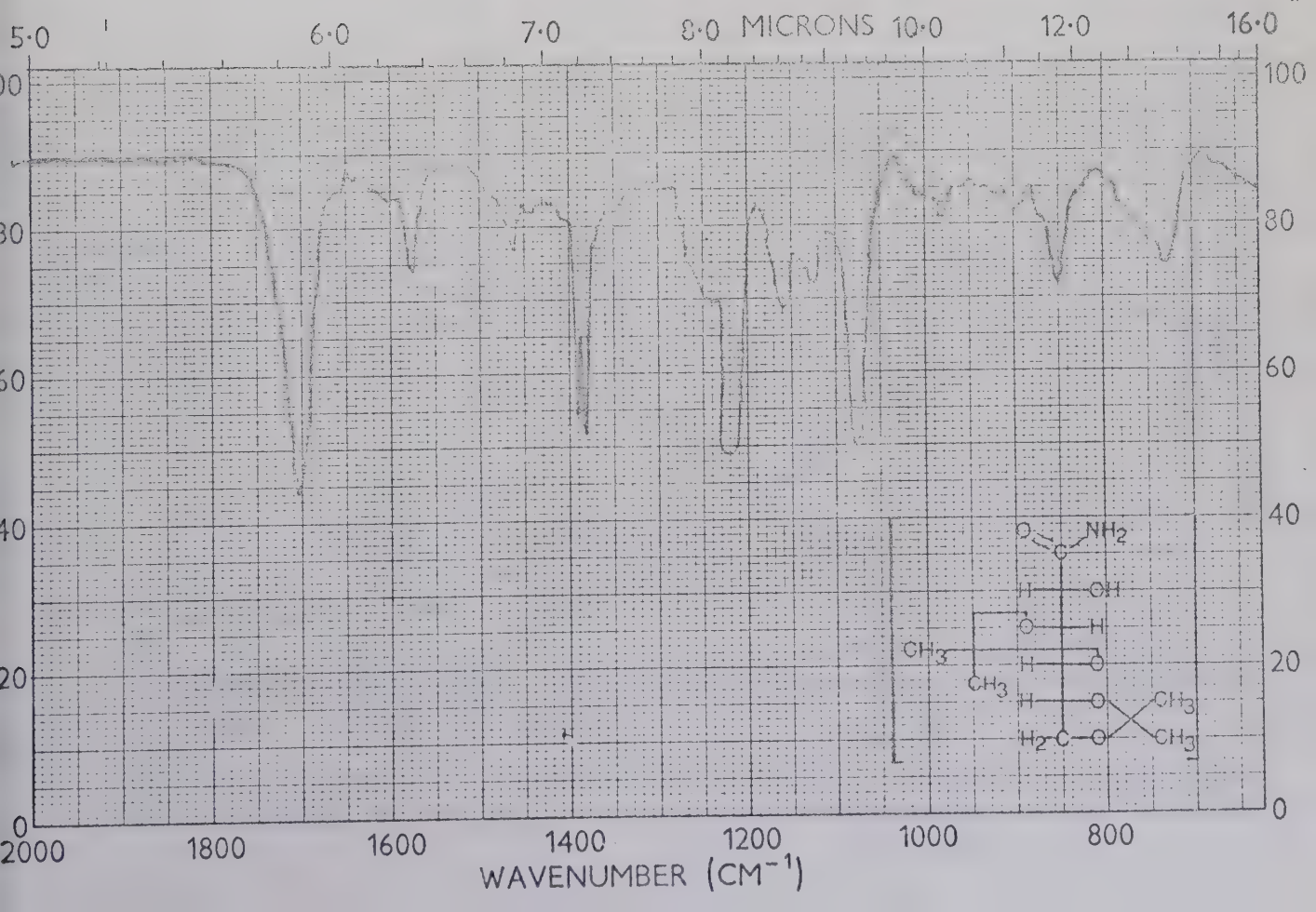
. à 3525 cm-1 et . à 3400 cm-1 } ν NH libre (amide I)

. à 3000 cm-1 : ν CH de CH_3

. à 1690 cm-1 : ν C=O de $R-CONH_2$ en solution

. à 1070 cm-1 : δ OH (alcool II)


MICRONS
3·0
3·5
4·0
5·0
6·0
4000
3500
3000
2500
2000
1500
WAVENUMBER (CM⁻¹)


5·0
6·0
7·0
8·0 MICRONS
10·0
12·0
16·0
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
WAVENUMBER (CM⁻¹)

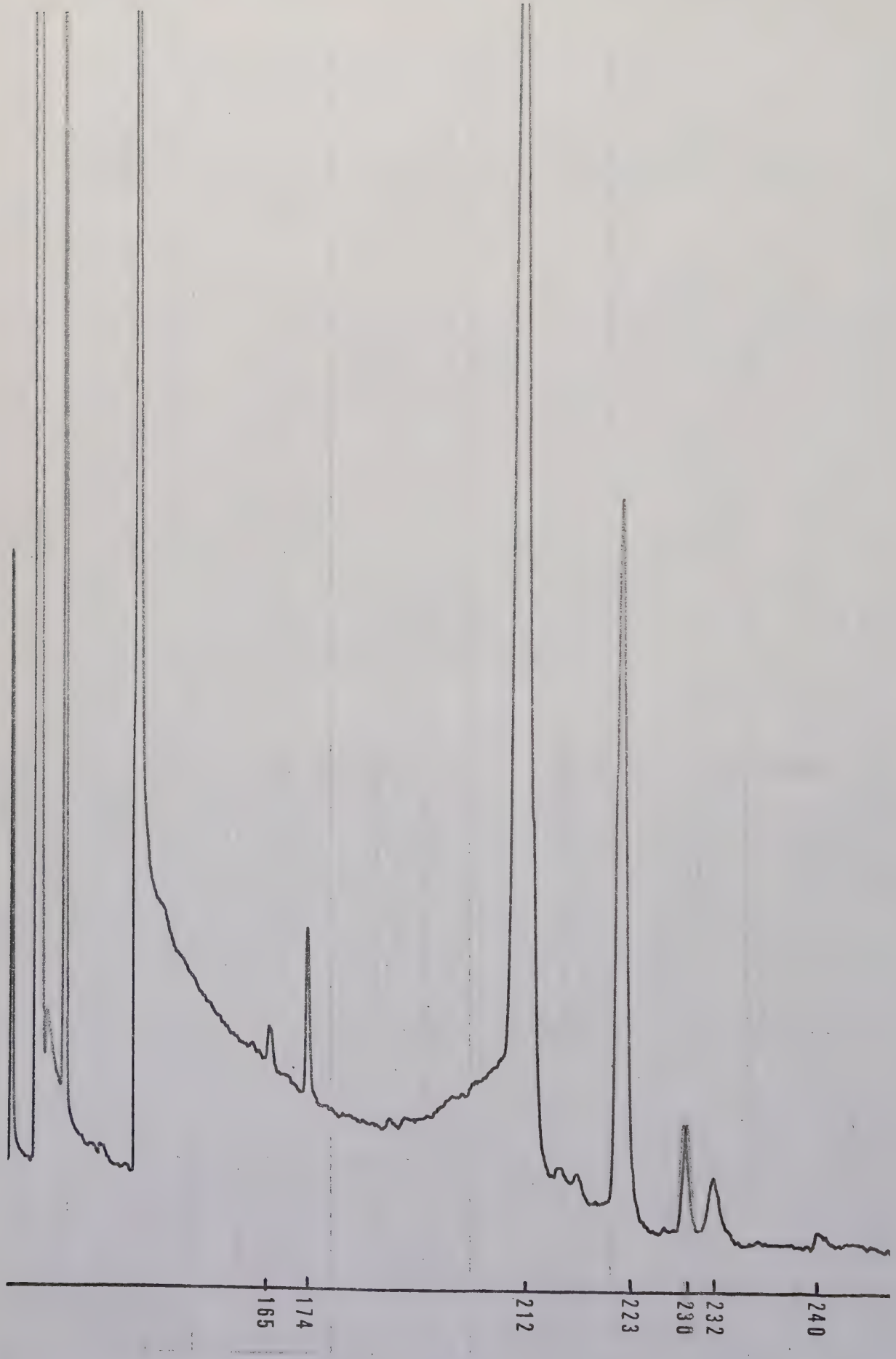


Figure N° 5 -Chromatogramme du mélange oxydé par le DMSO+Anhydride Acétique

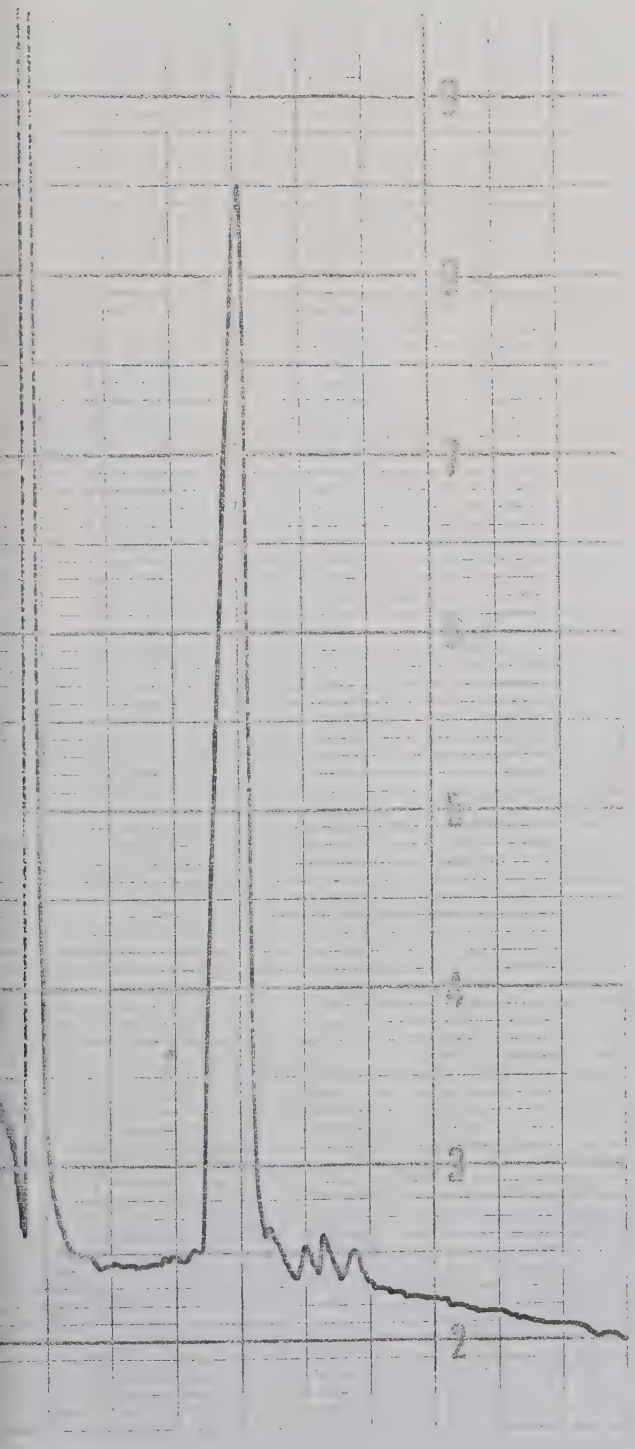


Figure N° 6

Chromatogramme du produit oxydé purifié

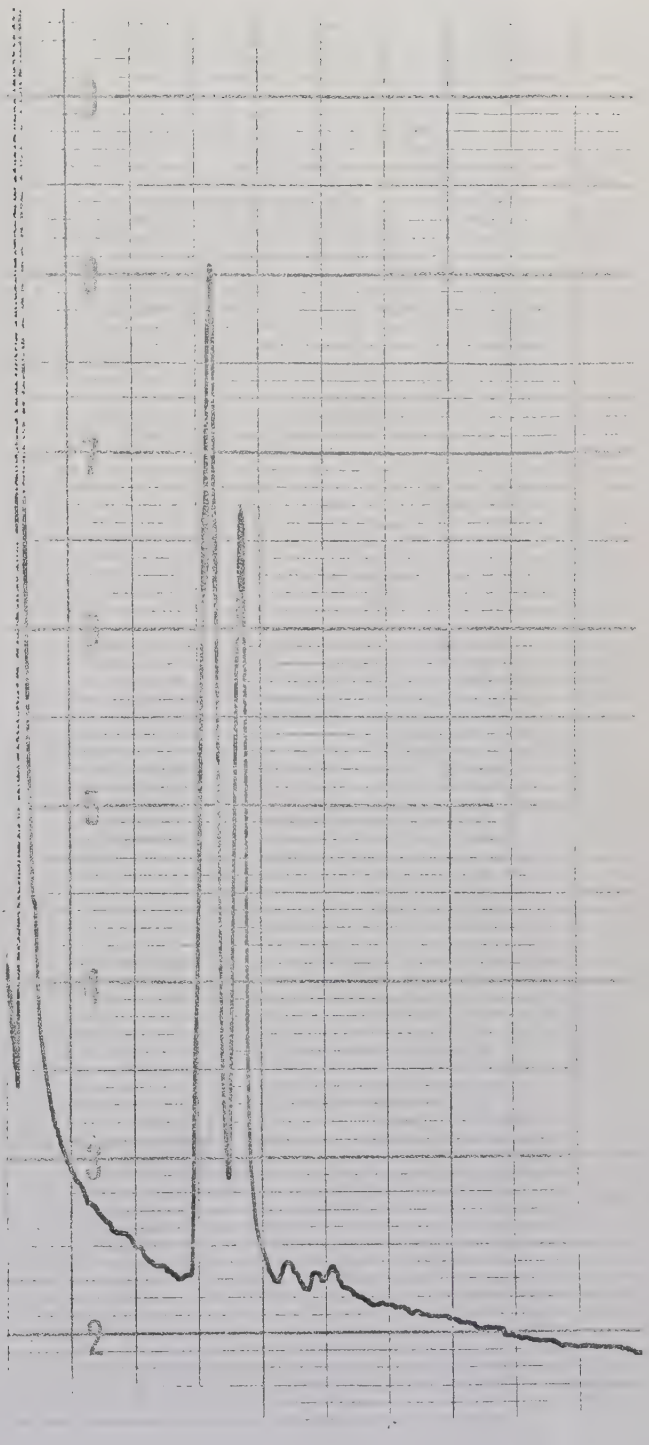
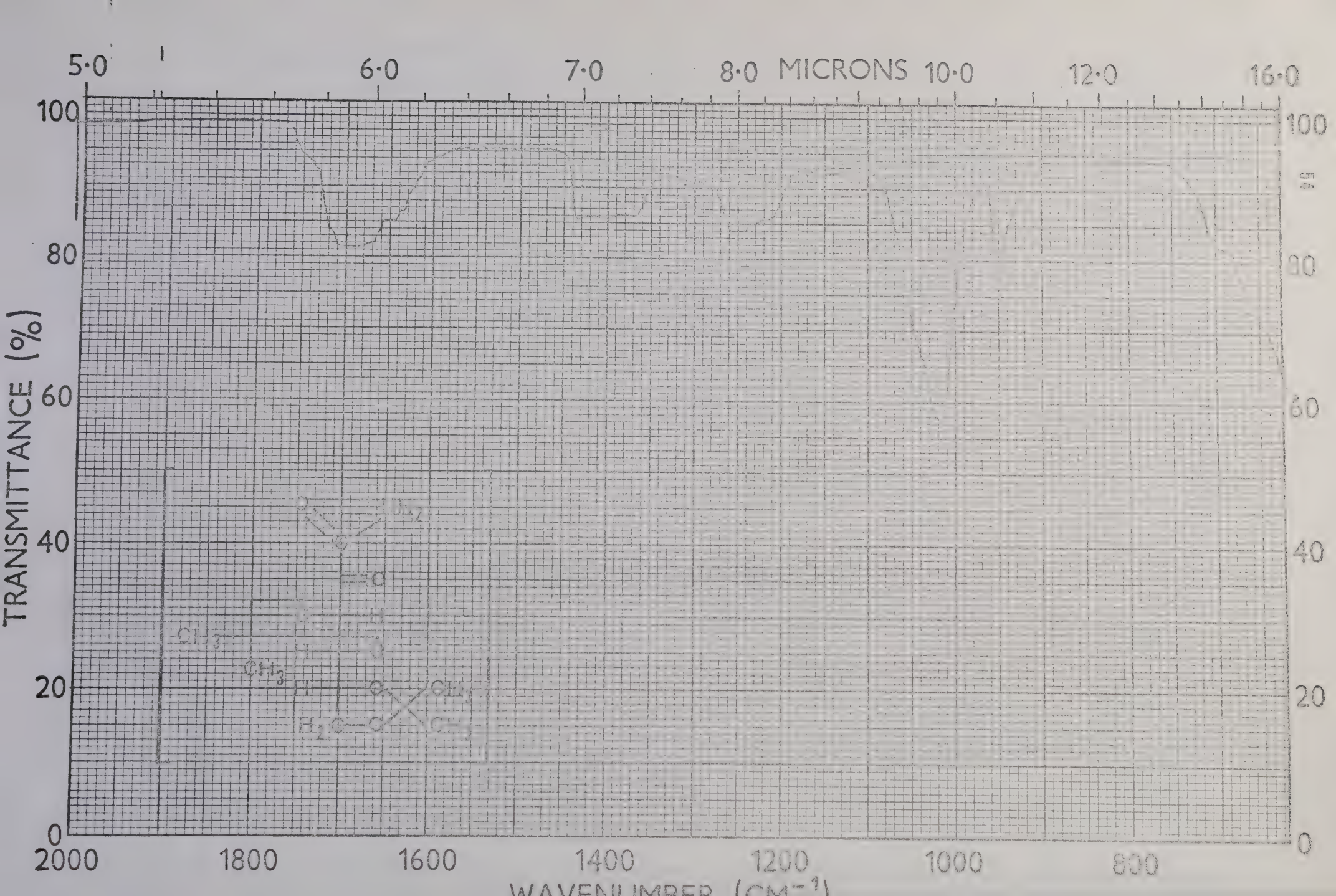


Figure N°

Chromatogramme du produit o
+ produit de départ


5·0
6·0
7·0
8·0
MICRONS
10·0
12·0
16·0
100
80
60
40
20
0
TRANSMITTANCE (%)
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
WAVENUMBER (CM⁻¹)

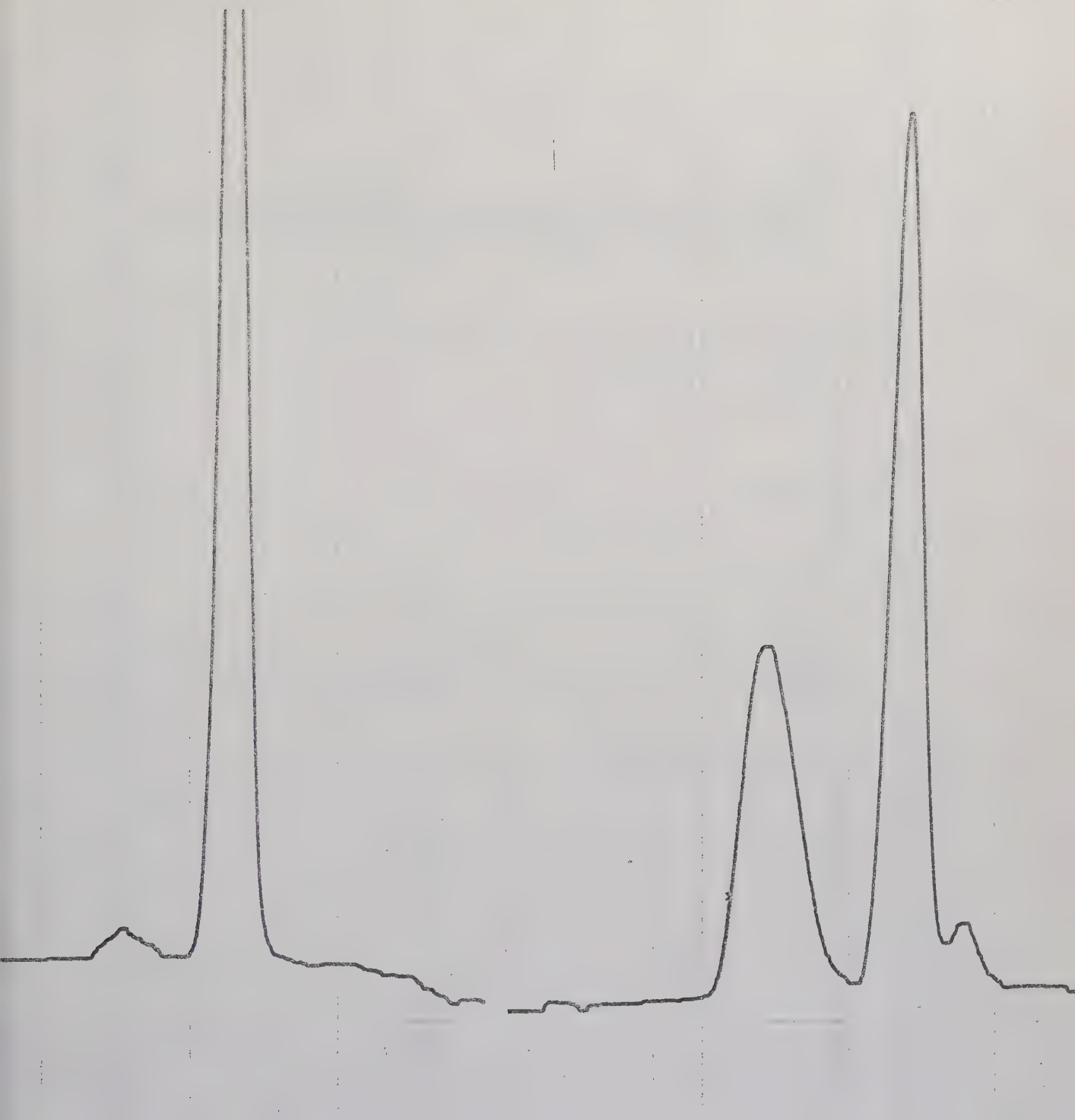


Figure N° 9

Chromatogramme du produit réduit

Figure N° 10

Idem + produit oxydé

Figure N° 11. SPECTRE DE R.M.N. du di-O-isopropylidène-D-gluconamide deutérié (III)

- Spectre réalisé à 100 mégacycles / s dans la pyridine deutériée.

On observe :

- Les pics correspondant aux méthyles des ponts isopropylidèniques (au nombre de 4 , c'est à dire qu'il n'y a pas eu déacétalisation).
- Les pics correspondant aux protons de NH_2
- Les autres protons de la chaine.

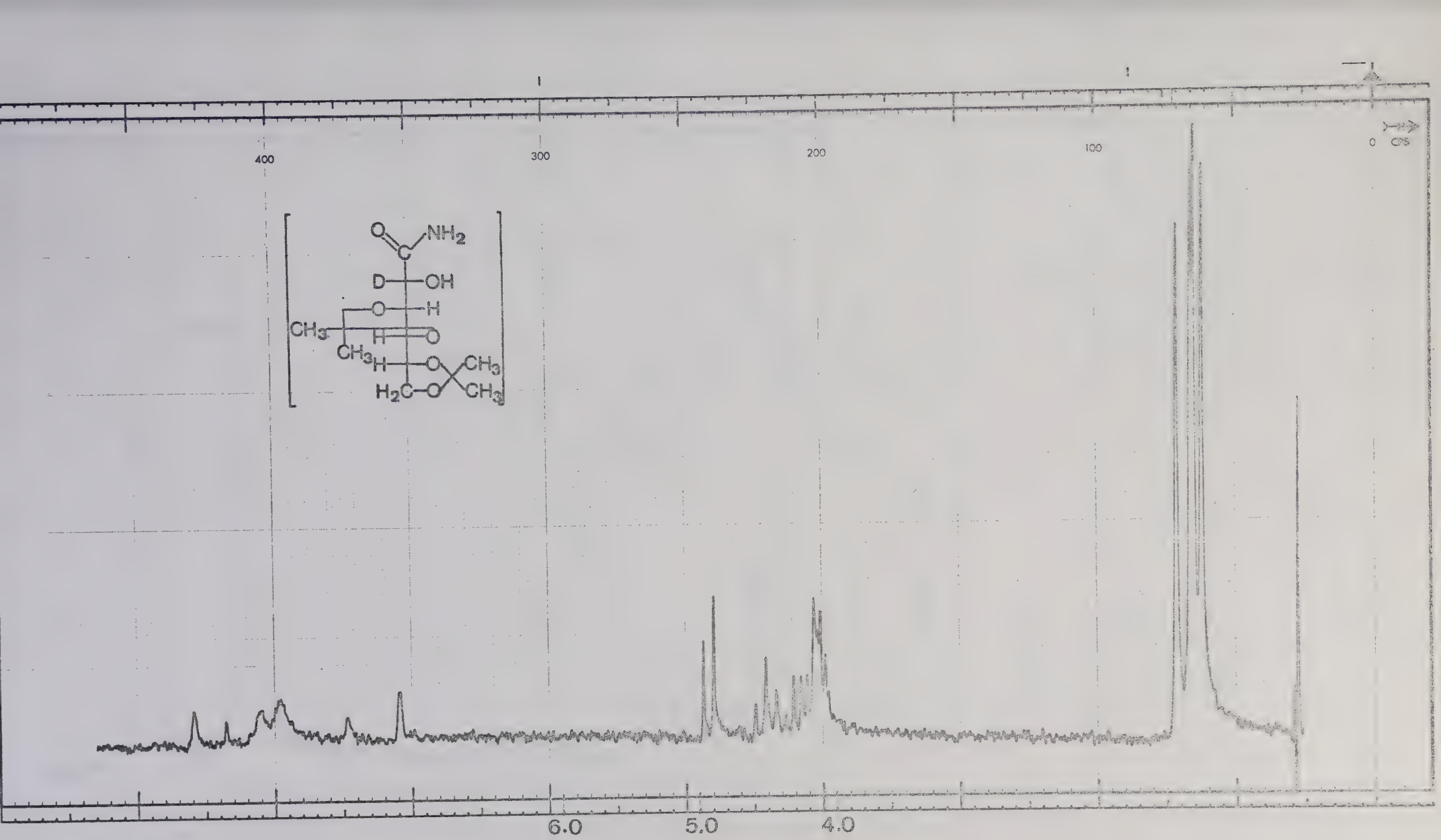

400
300
200
100
0 CPS
6.0
5.0
4.0

Figure N° 12. SPECTRE DE R.M.N. du di-O-isopropylidène-D-gluconamide deutérié (III).

- Spectre réalisé à 100 mégacycles / s dans la pyridine deutériée.

On observe :

- Le doublet dédoublé à 4,9 ppm s'est transformé en doublet simple.

- Le doublet à 4,7 ppm a disparu.

- L'irradiation du proton correspondant au doublet à 4,9 ppm.

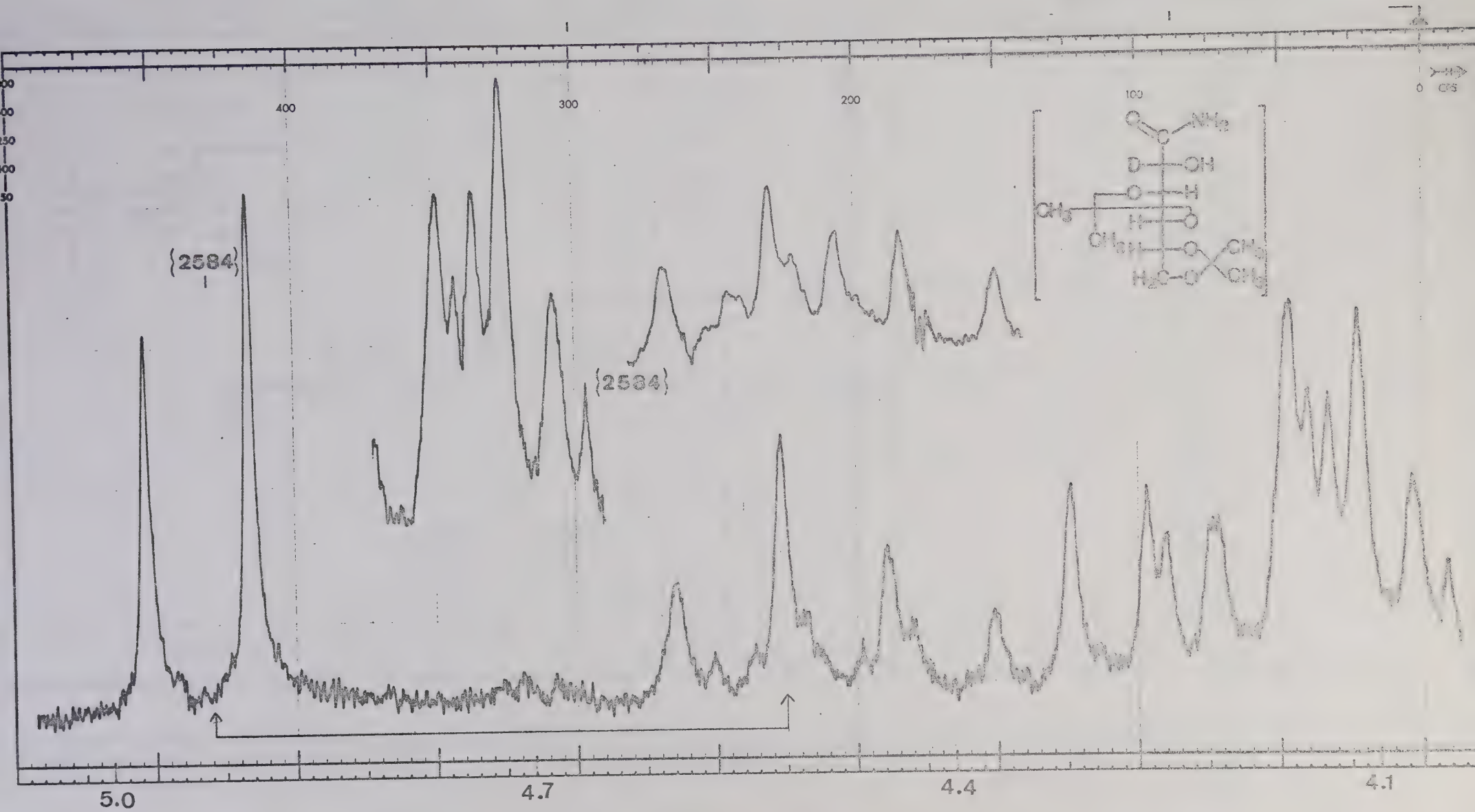

400
300
200
100
0 CPS
{2584}
{2584}
5.0
4.7
4.4
4.1

Figure N° 13. SPECTRE DE R.M.N. du 2-O-acétyl -3,4 ; 5,6-di-O-isopropylidène-D-gluconamide (IV).

- Spectre réalisé à 60 mégacycles / s dans le chloroforme deutérié.

On observe :

- Outre le pic correspondant au groupe acétyle à 2,2 ppm, nous retrouvons l'aspect général des spectres précédents.

- Une différence cependant : le doublet à 4,65 ppm et le doublet dédoublé à 4,85 ppm se sont échangés. Ils apparaissent maintenant respectivement à 5,4 ppm et 4,5 ppm sous l'influence du groupe acétyle.

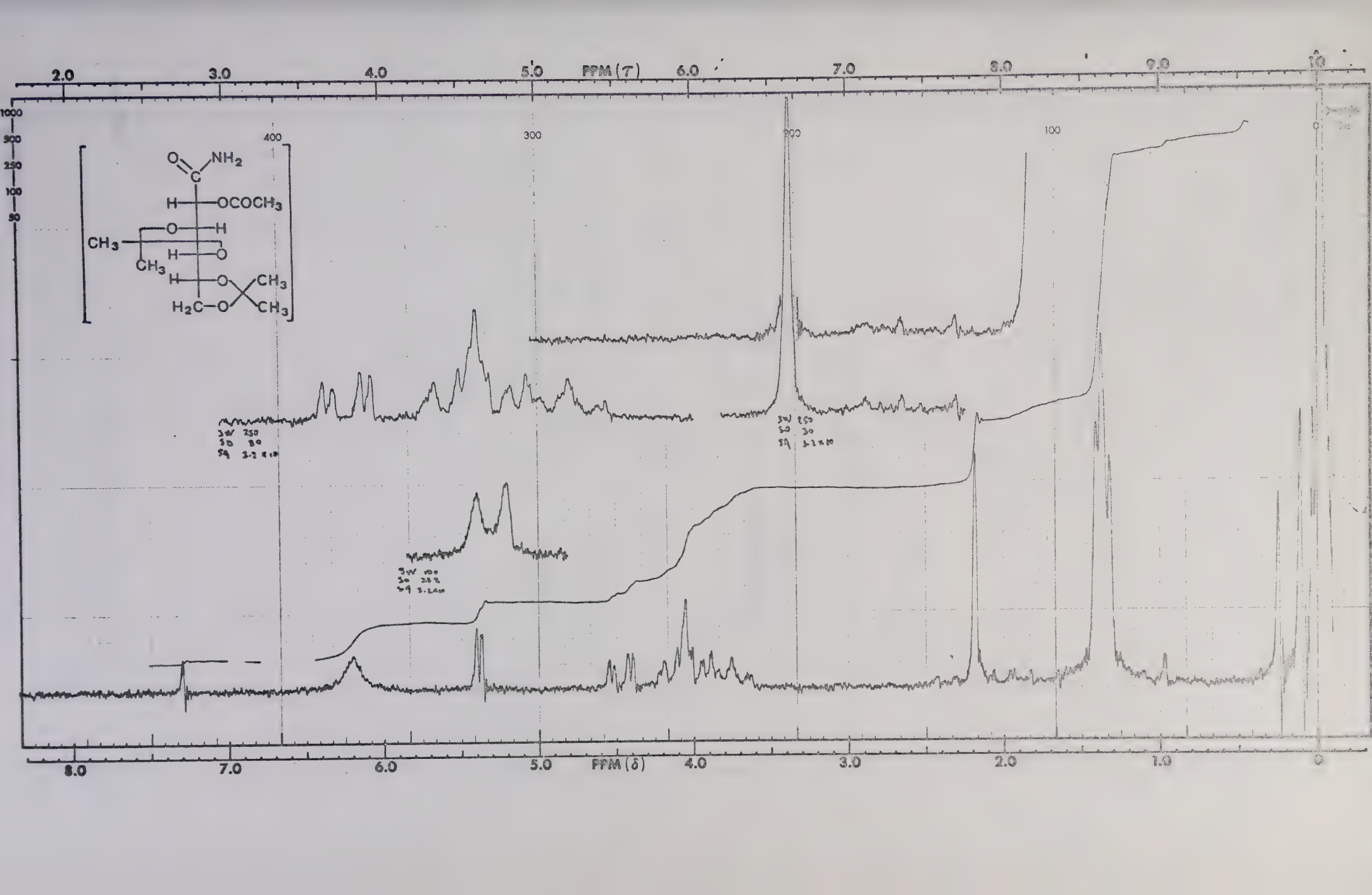

2.0
3.0
4.0
5.0
PPM (τ)
6.0
7.0
8.0
9.0
10
1000
500
250
100
50
400
300
200
100
0
O
NH2
C
H
OCOCH3
O
H
CH3
H
O
CH3
H
O
CH3
H
O
CH3
H2C
O
CH3
8.0
7.0
6.0
5.0
PPM (δ)
4.0
3.0
2.0
1.0
0

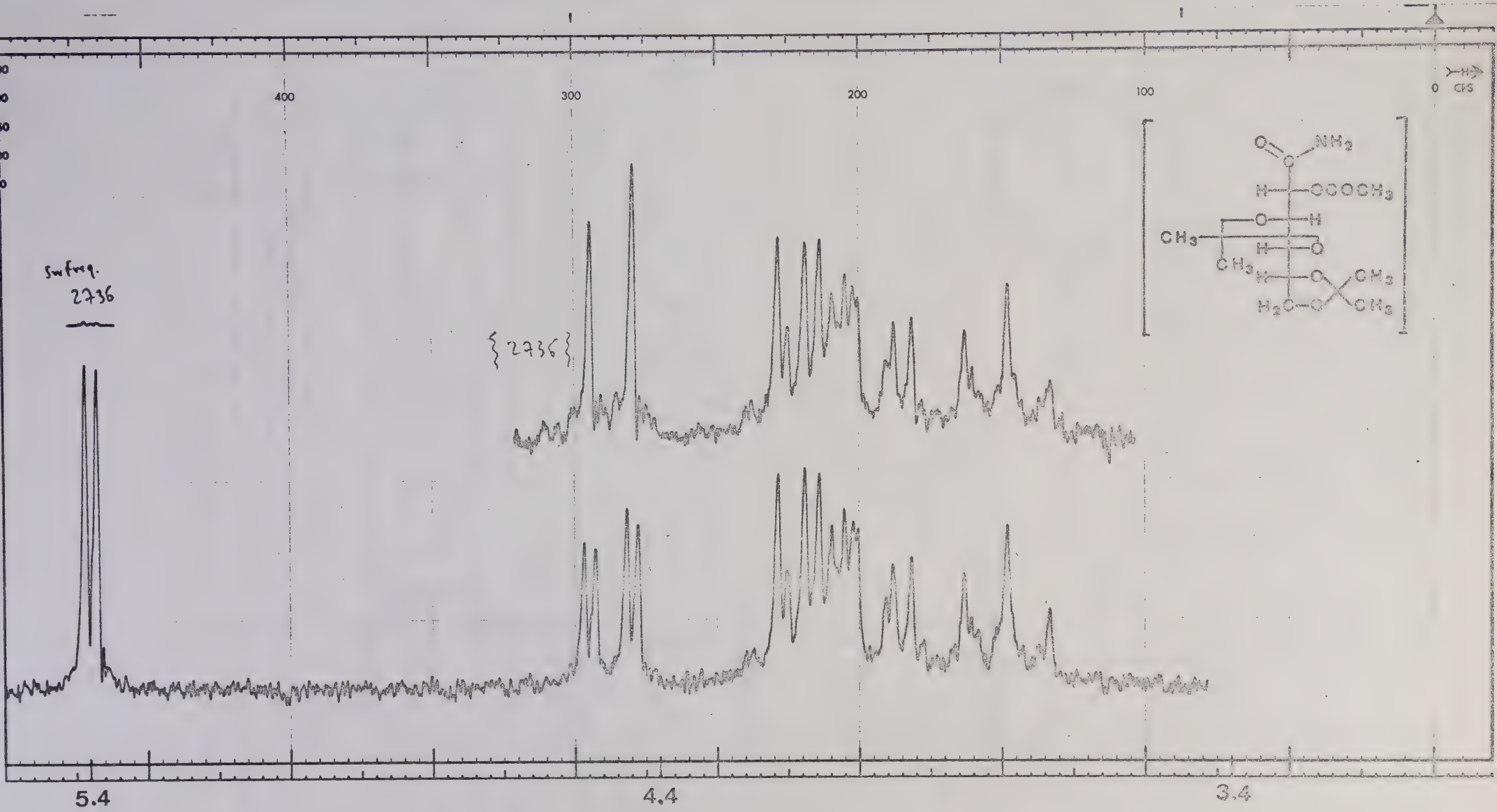
Figure N° 14. SPECTRE DE R.M.N. du 2-O-acétyl-3,4;5,6-di-O-isopropylidène-D-gluconamide (IV).

- Spectre réalisé à 100 mégacycles / s dans le chloroforme deutérié.

On observe :

- Détail des pics centraux

- L'irradiation du proton correspondant au doublet à 5,4 ppm.


400
300
200
100
0 CPS
Swfreq.
2736
{2736}
5.4
4.4
3.4

C H A P I T R E III

DEUTERIATIONS EN 6,6' et en 1

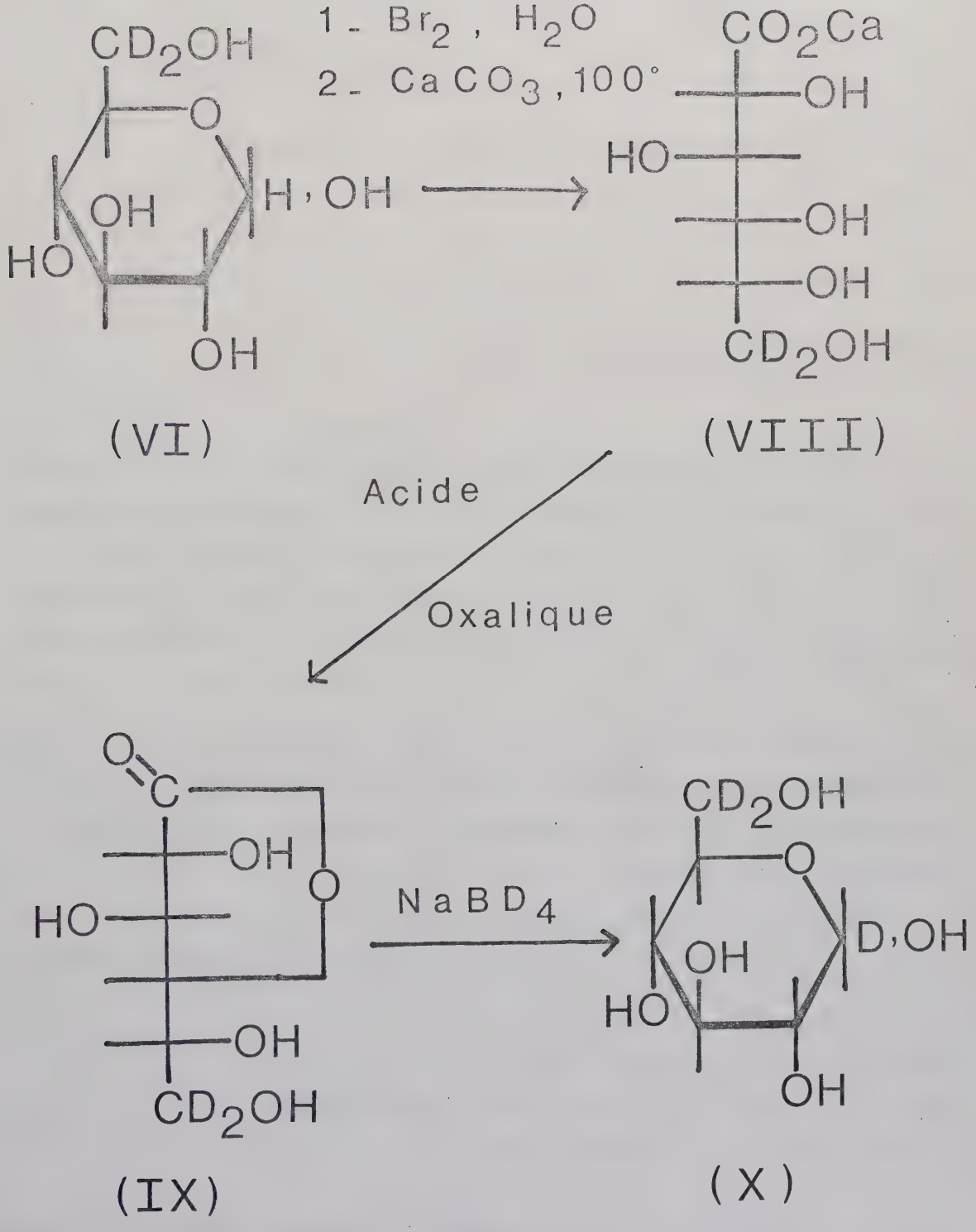
III.1. INTRODUCTION.

En ce qui concerne le marquage en 6 et 6' nous avons repris la synthèse de LEMIEUX et STEVENS (3) modifiée par VINCENDON. La D-glucurone acétalisée en 1,2 est réduite par le borodeutérure de sodium. Le produit obtenu est hydrolysé et une petite fraction du 6,6'-dideutério-glucose ainsi préparé est acétylée afin de déterminer par spectrométrie de masse le pourcentage de la deutériation réalisée.

D'autre part la deutériation de la position 1 se fait selon le schéma réactionnel décrit dans le tableau V.

Le 6,6' -di-deutério-glucose préparé précédemment est oxydé par l'eau de brome. L'acide gluconique correspondant est isolé sous forme de sel de calcium puis lactonisé. Après réduction par le borodeutérure de sodium, le 6,6', 1-tri-

TABLEAU V



deutério-glucose est mis en évidence par l'intermédiaire d'un dérivé acétylé.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

III.2. DEUTERIATIONS EN 6 et 6'

Le procédé utilisé par Vincendon consiste à réduire le 1,2-O -isopropylidène -D-glucurone (V) par le borodeutérure de sodium. Le produit obtenuest hydrolysé en présence d'acide sulfurique. Il conduit à un mélange de 6,6'-di-deutério- α et β glucoses (VI) que nous mettons en évidence par chromatographie en phase gazeuse par l'intermédiaire de dérivés silylés.

Une fraction du mélange est acétylée par la pyridine et l'anhydride acétique. On vérifie en C.P.G qu'il s'agit d'un mélange de α et β penta-o-acétyl-6,6' -di-deutério-glucopyranose (VIIa).

Une autre fraction du mélange (VI) est acétylée par l'acétate de sodium dans l'anhydride acétique. Dans ce cas le penta-O-acétyl-6,6'-di-deutério- β - glucopyranose cristallise seul (VIIb). Son spectre de R.M.N (figure 15 , page 68) présente les mêmes caractéristiques que celui réalisé par LEMIEUX et STEVENS (61).

D'autre part son spectre de masse (figure 16, page70) montre un pourcentage de di-deutériation de 65%. Ce pourcentage est en effet abaissé par la présence de dérivés mono

et tri-deutériés.

III. 3. DEUTERIATION EN 1

Le mélange de 6,6'-di-deutério-α et β -glucoses (VI) est oxydé par l'eau de brome en présence de benzoate de baryum. L'acide gluconique se forme. Il est isolé par l'intermédiaire de son sel de calcium (VII) puis lactonisé (IX). Après réduction par le borodeutérure de sodium on obtient un sirop qui en C.P.G se révèle être un mélange de glucoses α et β (X)

Une fraction de ce mélange est acétylée par l'anhydride acétique en présence de pyridine. Un spectre de masse du composé obtenu (XI) a été réalisé (figure 17, page 72). On constate d'après les intensités des pics présents que le dérivé tri-deutérié est présent à 60% dans le mélange mais qu'il y a en outre 20% de dérivé tétra-deutérié, et 20% de di-deutérié. D'une façon générale il apparait que pour l'ensemble de ces deutériations réalisées, même si l'on tient compte de la présence de carbone 13 et d'éventuelles recombinaisons mettant en jeu un proton, les résultats de la spectrométrie de masse ne sont pas excellents. Ils doivent par conséquent être confirmés. En cas de similitude le choix de l'agent deutériant pourrait être discuté.

Figure N° 15. SPECTRE DE R.M.N du 6,6' -dideutério- β - D-glucopyranose pentaacétate (VIIb)

- Spectre réalisé à 100 mégacycles par seconde dans le benzène deutérié.

On Observe :

- à 3,4 ppm le doublet correspondant au proton 5.
- à 5,8 ppm celui du proton anomérique.
- entre 5,1 et 5,4 ppm les signaux des trois autres protons (H_2, H_3, H_4).

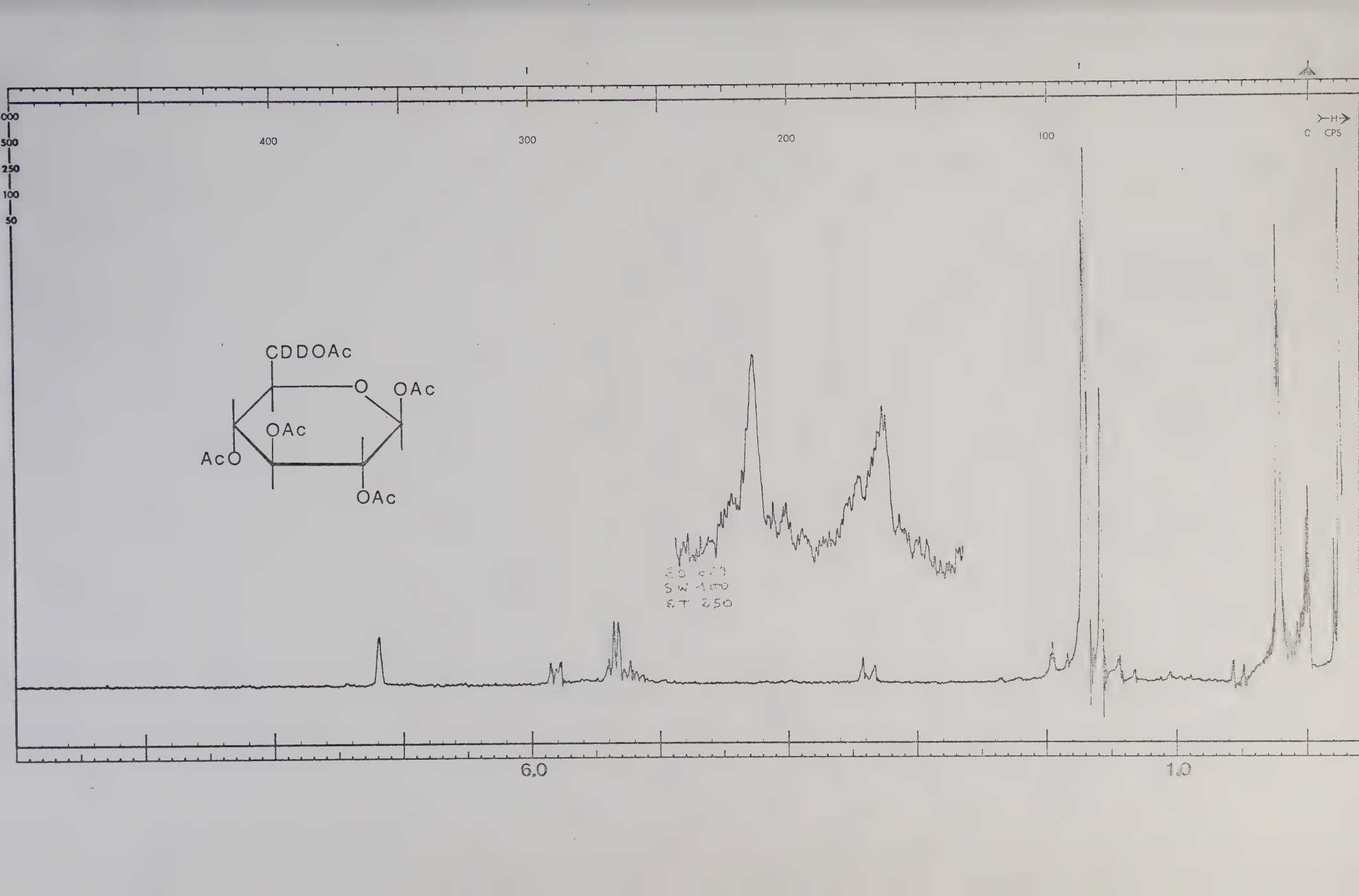

400
300
200
100
C CPS
CDDOAc
O
OAc
OAc
AcO
OAc
6.0
1.0

Figure N° 16. SPECTRE DE MASSE du 6,6' -di-deutério- β - D- glucopyranose pentaacétate (VIIb).

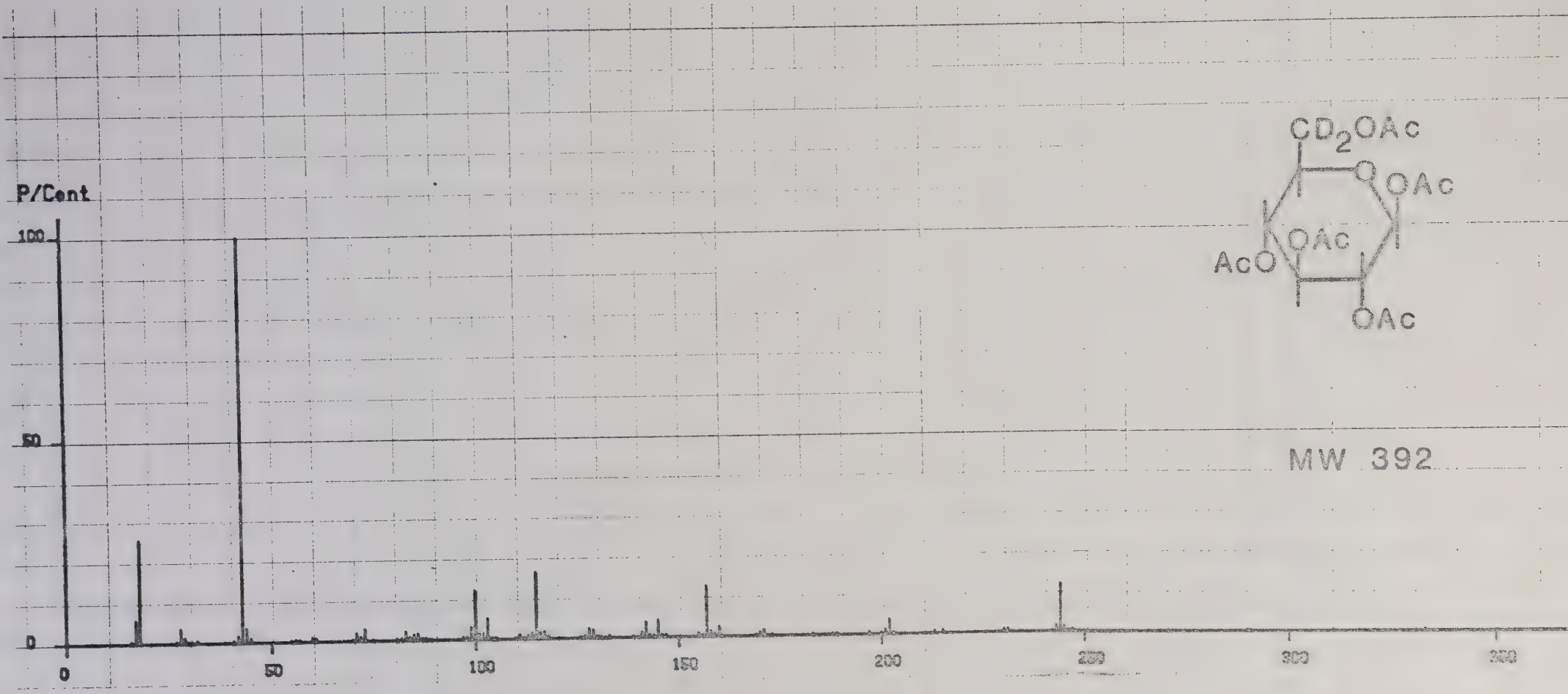
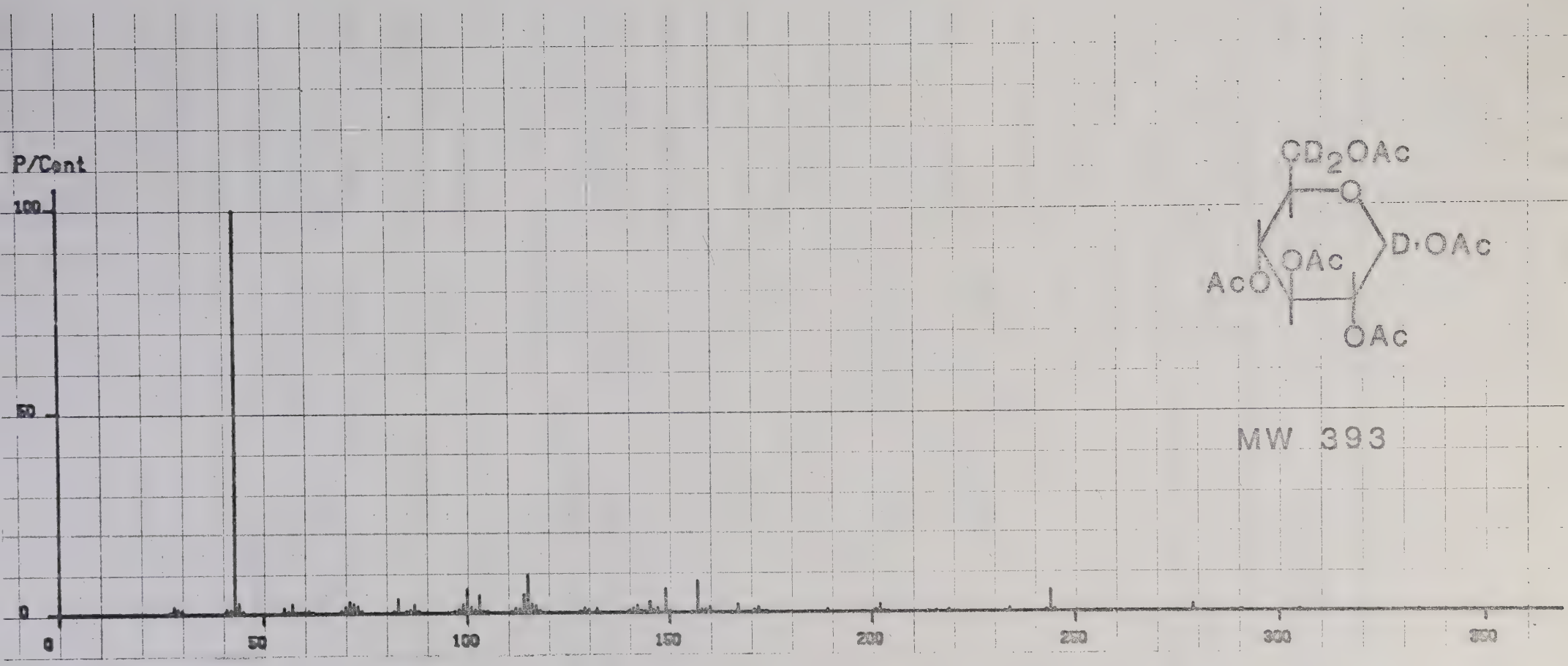

P/Cent
100
50
0
0
50
100
150
200
250
300
350
CD2OAc
OAc
AcO
OAc
OAc
MW 392

Figure N° 17. SPECTRE DE MASSE du 6,6', 1 -tri-deutério-α-β- glucopyranose pentaacétates (XI)


P/Cent
100
50
0
0
50
100
150
200
250
300
350
CD2OAc
O
D·OAc
AcO
OAc
OAc
MW 393

C H A P I T R E IV

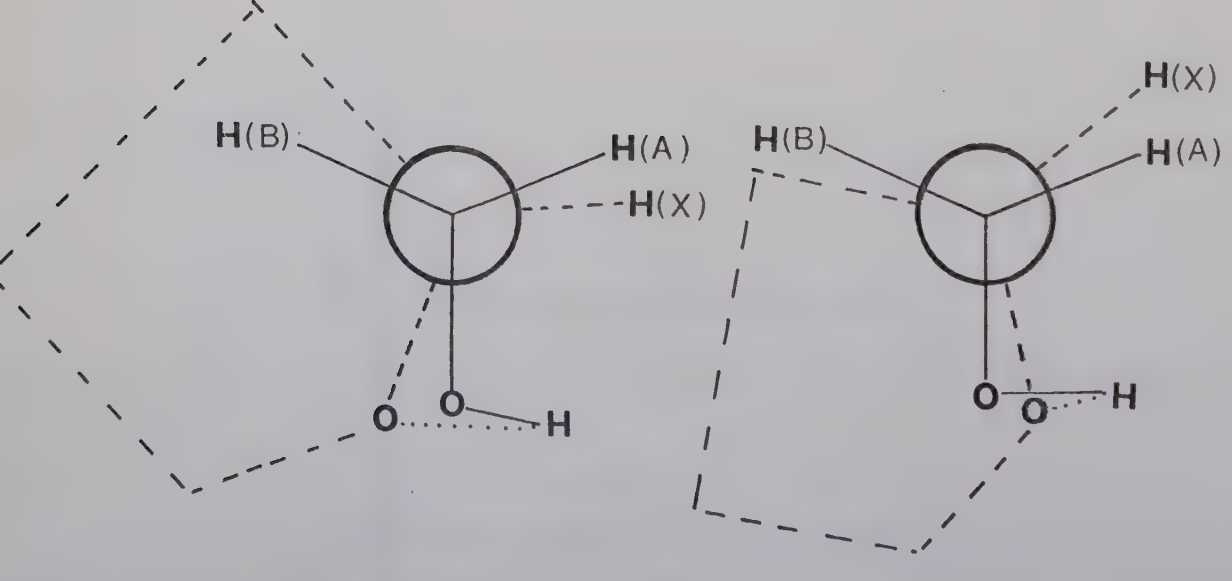
MONODEUTERIATION EN 6

IV. 1. INTRODUCTION

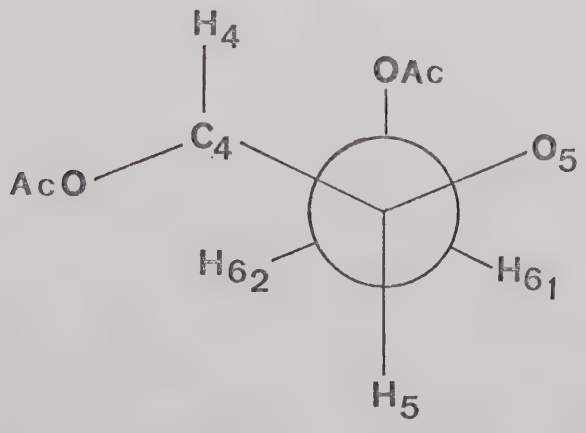
L'identification des protons non équivalents du point de vue de la R.M.N d'un groupe méthylénique situé en α d'un carbone asymétrique, reste dans tous les cas une question controversée.

La plupart des chercheurs qui ont abordé ce problème ont toujours abouti à des solutions arbitraires voire contradictoires, toutes fondées sur la comparaison des valeurs de couplage avec l'hydrogène voisin.

Dans la série des alcools dihydrofuranniques et tétrahydrofuranniques (62) MONZEGLIO différencie les deux protons en appelant A le proton le plus déplacé par rapport au T.M.S. Ensuite choisissant une géométrie priviligiée (la plus probable) des molécules, correspondant à celle dans laquelle une liaison hydrogène existe entre l'oxygène hétérocyclique et l'hydroxyle, il vérifie alors sur cette base choisie que les différences de déplacements chimiques et les couplages observés peuvent s'expliquer raisonnablement par des considérations d'influences spatiales dues à un atome électronégatif. En particulier, il vérifie l'attribution faite pour les deux protons.



Cependant, la démonstration n'est pas rigoureuse. Dans le domaine de la chimie des sucres les auteurs ont en général soit refusé de trancher, soit fait une attribution dont un aspect arbitraire demeure toujours.
Par exemple, HALL, MANVILLE et BHACCA (63) avancent que pour des composés ayant la configuration D-gluco et la terminaison suivante :

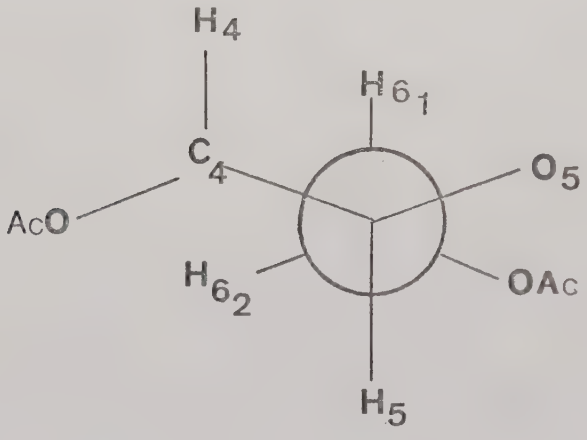


l'attribution des deux protons se fait sur la base d'une dépendance configurationnelle des couplages vicinaux. En effet il a été montré que tout proton antiparallèle à un substituant électronégatif possède un couplage (avec un proton vicinal) inférieur à celui que présente un proton gauche vis à vis du même substituant électronégatif,

Ainsi, ici H_{6_2} qui est anti-planaire vis à vis de O_5 a un couplage $J_{5,6_2} \simeq$ 2,5 Hz inférieur au couplage $J_{5,6_1} \simeq$ 4,5 Hz.

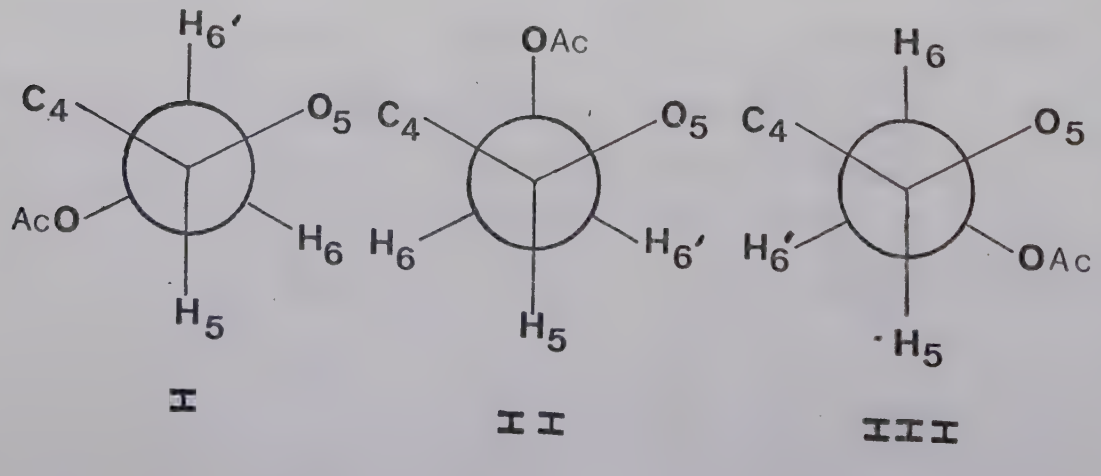
Si ce résultat semble correct il est cependant certain que l'hypothèse de départ concernant une dépendance configurationnelle des couplages vicinaux en limite la généralisation.

En outre les résultats de LEMIEUX et STEVENS (61) sont strictement opposés. En effet, ceux-ci dans l'analyse des spectres de R.M.N des α et β-D-glucopyranose pentaacétates, ont conclu à la prédominance du rotamère suivant :



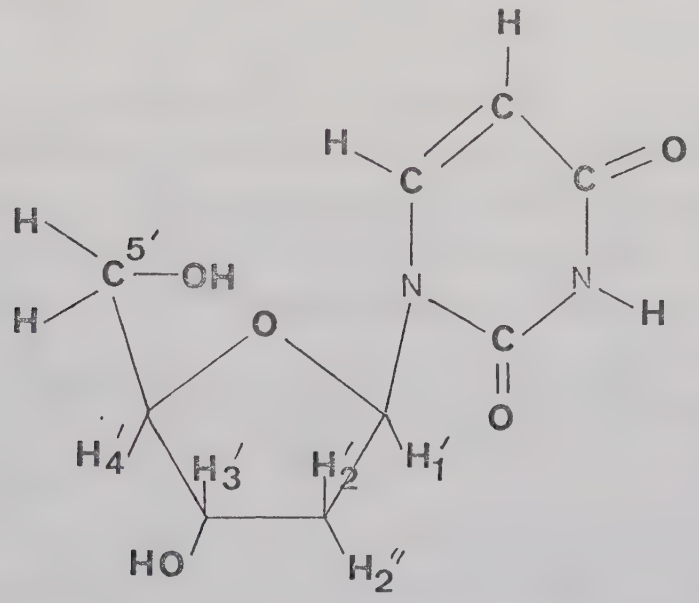
dans lequel le facteur de déstabilisation que constituait le groupe AcO_6 gauche vis à vis de C_4 et de O_5 comme dans la conformation décrite par HALL et Coll., n'existe plus.

Nous pouvons aussi remarquer que les résultats de HOLLAND, HORTON, MILLER et BHACCA (64) en ce qui concerne le 1-thio- β-D-glucopyranose pentaacétate sont en contradiction avec ceux de HALL et rejoignent ceux de LEMIEUX et STEVENS. HOLLAND et HORTON considérent les trois rotamères possibles :



Pour eux les différentes conformations dues à la libre rotation de la liaison C_5-C_6, présentent en R.M.N. un spectre moyen dont les valeurs de couplage permettent d'évaluer sommairement la contribution de chaque rotamère. Ainsi ici, ils trouvent que le rotamère III a une participation majeure vis à vis du rotamère II, tandis que le rotamère I peut être négligé.

Enfin, dans une publication récente, HRUSKA, SMITH et DALTON (65) examinant les rotamères possibles du nucléoside suivant :



Afin d'avoir une mesure qualitative des différentes contributions relatives, ils usent d'un artifice mathématique. Les deux hydrogènes ($H_{5'B}$ et $H_{5'C}$) magnétiquement non équivalents n'ont pas été attribués d'une façon absolue et seule la somme des deux couplages vicinaux ($\underline{J}_{4'5'B} + \underline{J}_{4'5'C}$) a été prise en considération.

L'examen de ces différents cas met donc en relief la nécessité, pour réaliser une attribution sans ambiguité, de trouver un moyen sûr de trancher. A ce propos, nous avons pensé que la monodeutériation en 6, à condition de présenter une certaine stéréosélectivité, pourrait fournir ce moyen car alors en R.M.N les deux sites méthyléniques peuvent être

caractérisés sûrement par passage à un dérivé bicyclique où la réponse est univoque ($J_{ax.ax} \neq J_{eq.ax}$).

L'objectif de cette partie de notre travail a donc consisté à préparer un composé monodeutérié en 6 du glucose. Dans ce but, nous avons repris une synthèse réalisée dans les laboratoires du Professeur HORTON par LUETZOW et WEASE dont l'idée était de préparer (sans deutériation) des sucres cétoniques ou aldéhydiques par photolyse de dérivés azido.

Le tableau (VI page79) résume leur démarche.

Nous avons pensé qu'en substituant le borohydrure de sodium par le borodeutérure nous pourrions mettre en évidence du Me α-D-glucopyranoside monodeutérié en 6 puisque l'échange ne peut faire intervenir qu'un seul atome même s'il y a birépartition du deutérium. Nous aurons alors à répondre à trois questions :

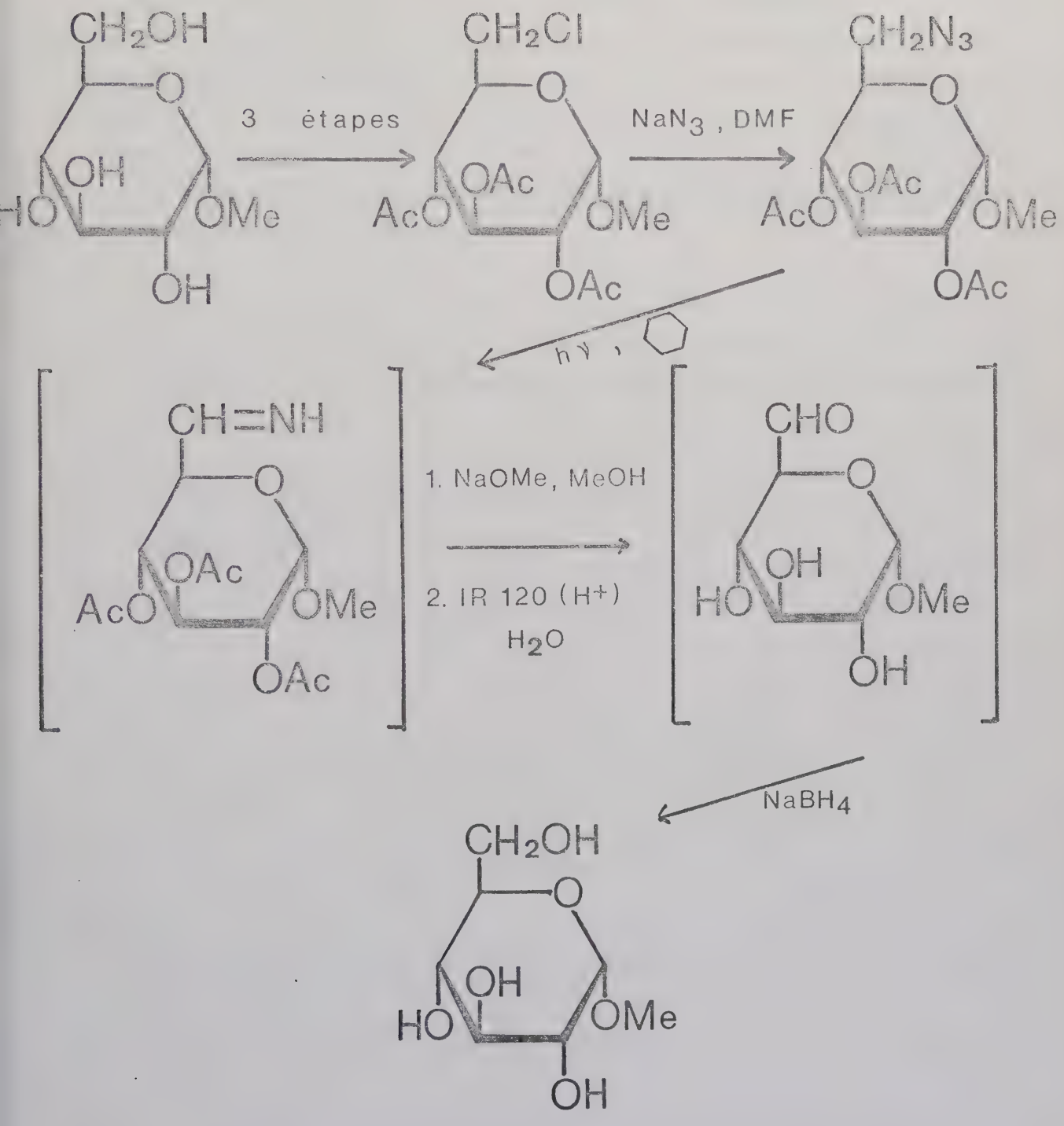
1. Quel est le pourcentage de la deutériation ? La R.M.N et surtout la spectrographie de masse pourront aisément répondre à cela.

2. Comment la deutériation a-t-elle lieu ? Est elle spécifique sur une des positions 6 ou plus probablement touche-t-elle les deux ? Dans ce dernier cas quelle est la distribution ?

3. Pouvons-nous à coup sûr, distinguer entre les deux hydrogènes de la position 6 lequel est lequel ? A ce sujet nous serons amenés à fabriquer à partir de notre composé deutérié, un dérivé, par exemple, le Me 4,6-O-benzylidène 2,3-di-O-acétates-α-D-glucopyranoside dans lequel nous savons que les deux hydrogènes de la position 6 ont une stéréochimie déterminée et qu'ils ne sont pas équivalents.

Le R.M.N pourra alors nous permettre de les différencier par leurs déplacements chimiques et par leurs couplages respectifs. D'autre part, et afin de résoudre l'équivoque

TABLEAU VI


CH2OH
3 étapes
CH2Cl
NaN3 , DMF
CH2N3
hν ,
CH=NH
1. NaOMe, MeOH
2. IR 120 (H+)
H2O
CHO
NaBH4
CH2OH

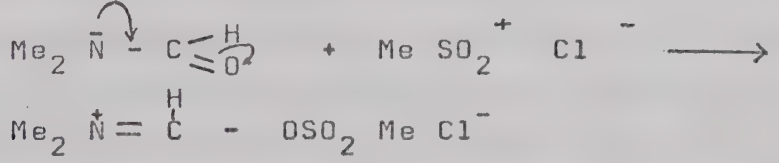
existant pour des configurations différentes, nous préparerons à partir, de ce composé monodeutérié obtenu, d'autres dérivés, par exemple, un dérivé à chaine ouverte, un autre sous forme pyranosique et un autre sous forme furanosique. Bien entendu, l'emploi d'un agent de deutériation autre que le borodeutérure de sodium n'est pas exclu et pourrait être envisagé dans le cas où le réactif précédent ne présenterait pas une stéréosélectivité suffisante.

IV. 2. GENERALITES BIBLIOGRAPHIQUES

A. REACTION DES SUCRES AVEC LE CHLORURE DE MESYLE DANS LE N,N-DIMETHYLFORMAMIDE.

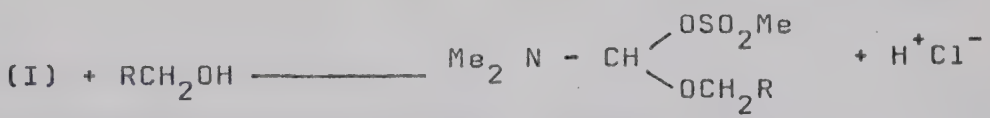
Tandis que dans la pyridine l'action du chlorure de mésyle sur un sucre ou un alcool conduit à un produit sulfoné, dans le N,N-diméthylformamide anhydre, nous obtenons un dérivé chloré.

En effet, dans le D.M.F le chlorure de mésyle donne un complexe (I) qui peut réagir sur un groupe hydroxyle libre : (66)



(I)

En présence d'un alcool primaire, il y a attaque nucléophile sur le sel d'iminium (I)

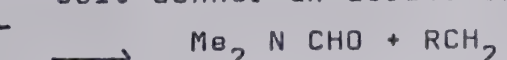


qui se réarange pour donner l'intermédiaire (II)

(II)

L'intermédiaire (II) selon les conditions anhydres dumilieu réactionnel peut évoluer de deux façons différentes. Il peut :

- soit donner un dérivé chloré, en présence de Cl^- :



- soit donner un O-formate si le milieu n'est pas anhydre :

(II) _____ $HCO_2\ CH_2R$ + Me_2NH

Bien entendu, même dans le cas le plus favorable un peu de formate apparait. On peut aisément s'en débarrasser par déestérification au méthoxyde de sodium, ou simplement par stockage à la température ambiante (67).

B. PHOTOLYSE D'UN AZIDO-SUCRE.

Le mécanisme précis et complet de la photolyse d'un dérivé azido est trop complexe et d'ailleurs non encore entièrement élucidé, pour être développé ici.

Nous nous bornerons donc à reppeler que les azides organiques peuvent être décomposés thermiquement ou photochimiquement avec perte d'azote moléculaire et formation de produits de substitution dérivés du biradical nitrène R-N: Ce biradical, dont la nature concorde avec les données spectroscopiques et les mesures de résonance, est capable de s'isomériser en imines R-CH=NH, de donner des amines primaires par fixation d'un hydrogène provenant de molécules voisines, enfin de former des cycles par déshydrogénation interne.

Du point de vue purement photochimique, nous pouvons remarquer que le groupe azide absorbe surtout vers 2500 Å. A de plus grandes longueurs d'ondes l'absorption est minimale.

IV. 3. RESULTATS EXPERIMENTAUX.

Nous avons strictement suivi pour la préparation du méthyl 2,3,4,-tri-O-acétyl-6-azido-6-déoxy- α -D-glucopyranoside le procédé employé par HORTON et son équipe. Nous partons du méthyl α -D-glucopyranoside sur lequel nous faisons successivement le 6-chloro, une acétylation des positions libres restantes et le 6-azido, l'ensemble avec un excellent rendement. Une difficulté, cependant, peut être signalée. Elle concerne la déestérification, par le méthoxide de sodium solide à pH 10, qui suit la phase de chloruration. Au papier pH ordinaire il est assez difficile de déterminer exactement la limite et au delà la réaction se dénature et conduit avec un très mauvais rendement à un mélange assez complexe. Nous avons pour notre part testé le pH à la phénol phtaléine et obtenu un très bon résultat.

A partir du méthyl 2,3,4-tri-O-acétyl-6-azido-6-déoxy- α -D- glucopyranoside (XIII) la photolyse nous a demandé plusieurs essais de mise au point. En effet, le choix de la lampe d'irradiation, le solvant utilisé, le temps de réaction, sont déterminants pour la génération d'un groupe imino. Alors que c'est une lampe haute pression que HORTON utilise, nous avons obtenu les meilleurs résultats avec une lampe basse pression et en prenant le cyclohéxane comme solvant.

La réaction est suivie en chromatographie sur plaques de silice jusqu'à disparition totale du produit de départ. En outre, la R.M.N et l'I.R. permettent de savoir si le produit obtenu (XIV) est bien conforme à ses caractéristiques théoriques. Après déacétylation catalytique par le méthoxyde de sodium et hydrolyse à l'aide d'une résine

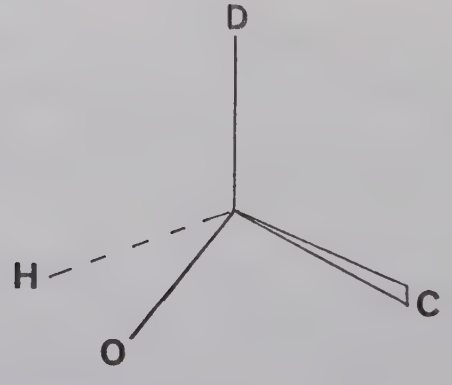
Amberlite I.R. 120 (H^+) nous obtenons le méthyl 6-aldéhydo-α-D-gluco-hexodialdo-1,5-pyranoside (XV). Ce produit n'est pas cristallisé. C'est un oligomère qui se présente sous l'aspect d'une poudre blanche après trituration à l'éther. La réduction de cette poudre par le borodeutérure de sodium, conduit à un sirop qui est chromatographié sur une colonne de gel de silice (éluant : acétate d'éthyle-éthanol-eau 45-9-5), et qui donne le méthyl 6-deutério-α-D-glucopyranoside dont le point de fusion est en tout point semblable à celui que présente un échantillon authentique de méthyl α-D-glucopyranoside.

A partir de ce composé deutérié et pour répondre aux questions posées dans l'introduction nous avons préparé une série de dérivés dont la synthèse sera décrite dans la partie expérimentale.

Dans ce chapitre nous présenterons et discuterons les résultats obtenus dans chaque cas.

Tout d'abord il convient de rappeler une convention de nomenclature à laquelle nous nous référerons.

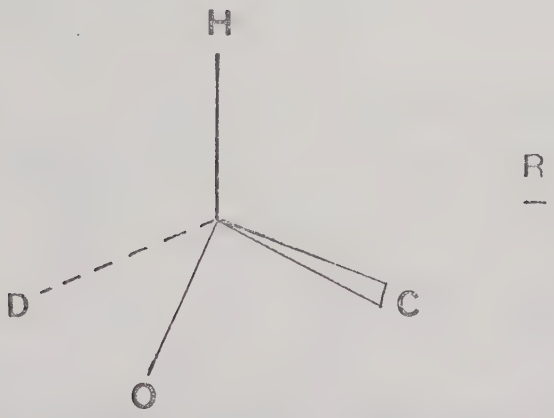
Etant donné la bi-répartition possible du deutérium sur les 2 hydrogènes du carbone 6, tout composé présentant la configuration suivante :



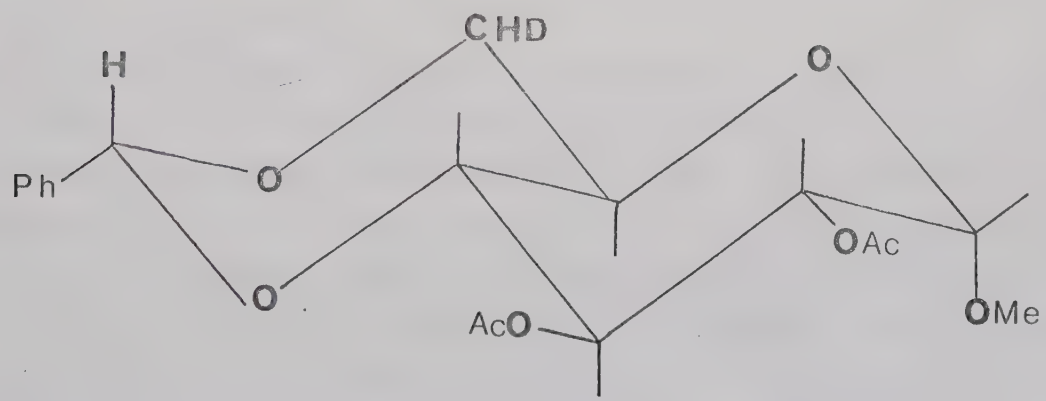
S

sera appelé "S".

et R tout composé ayant la configuration :



Le dérivé qui nous a intéressé en premier chef, parce qu'il était susceptible de nous fournir le maximum de renseignements, est le méthyl 4,6-O-benzylidène-2,3-di-O-acétate -6-deutério- ∝ -D-glucopyranoside (XVIII).



Son spectre de R.M.N (figure 18, page 106), a été entièrement analysé à l'aide du spectre théorique calculé grâce à un programme T. LAOCOON. De plus, l'irradiation du deutérium permet en supprimant le couplage entre un deutéron et un proton d'affiner la structure des signaux correspondant aux hydrogènes non échangés (figure 19 et 20, page 108 et 110).

Ce spectre de R.M.N nous amène aux conclusions suivantes ;

1°. La monodeutériation réalisée est effective à 90-95% (en effet une légère proportion du produit non deutérié demeure. On peut voir sa structure ébauchée sur le spectre).

2°. La monodeutériation réalisée présente une certaine stéréosélectivité. Une comparaison des aires situées sous les signaux des protons considérés conduit à un rapport de 60/40.

3°. L'analyse au premier ordre donne :

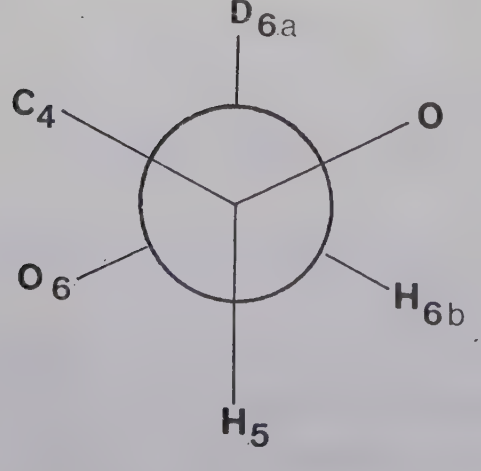
J_{5-6a} = 10,7 cps à haut champ

J_{5-6b} = 5,05 cps à bas champ

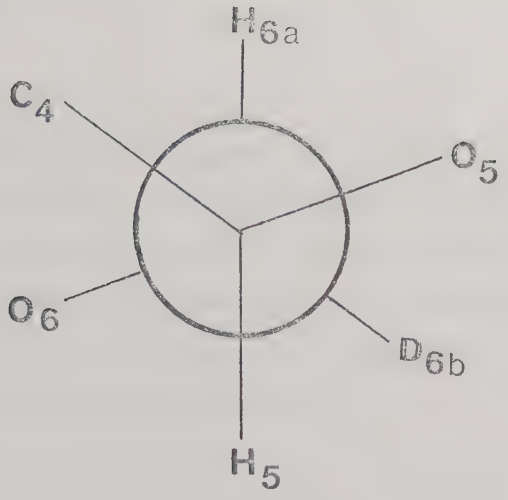
δ_{6a-6b} = 61,3 cps

Nous constatons d'autre part en comparant les intensités relatives des deux groupes de signaux, que le composé monodeutérié (6S) ayant le petit couplage (position b, caractéristique d'une conformation gauche) est majoritaire par rapport au produit monodeutérié (6R) ayant le grand couplage (position a, caractéristique d'une conformation antiparallèle).

Du fait de la formation particulière du benzylidène (c'est une trans-fusion sur le cycle pyranose), le nombre de conformations que peut prendre un dérivé de configuration α-D-gluco, est nécessairement limité et c'est par conséquent la forme chaise C1 qui existe d'une façon prépondérante en solution. Nous sommes donc en présence de deux diastéréoisomères dont la structure qui nous intéresse peut-être représentée en projection de NEWMAN par les formes suivantes :



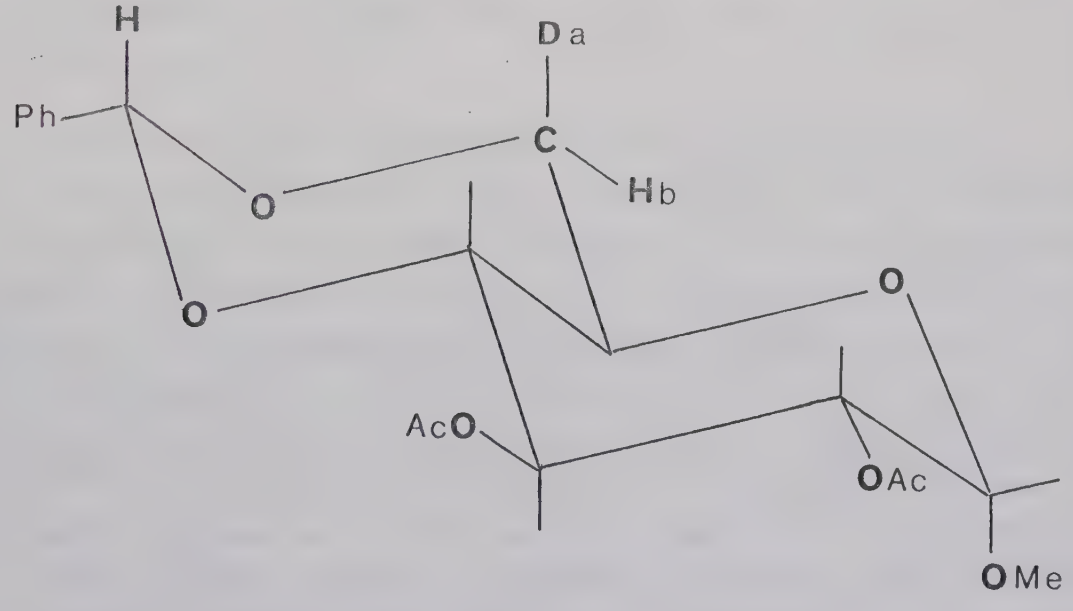
Configuration S
60 %



COnfiguration R

40 %

Par rapport aux valeurs attendues, les valeurs des couplages J_{5-6} sont satisfaisantes. La deutériation réalisée présente une certaine stéréosélectivité. Par là, elle nous amène à distinguer entre les deux protons méthyléniques lequel est lequel. Dans tous les cas elle conduit à un mélange de produits deutériés (avec une très petite proportion de produit non deutérié) où le dérivé de configuration 6-S est majoritaire, soit :



Méthyl 2,3-di-O-acétyl-4,6-O-Benzylidène-6-S deutério- ∝ -D-glucopyranoside.

Enfin, ilest à noter que le spectre de R.M.N du mélange présente une structure fine supplémentaire pour le proton 5. En effet, chacune des raies de l'ensemble du signal qui lui appartient est dédoublée avec un petit écart de 0,5 cps. Il s'agit là vraisemblablement d'un couplage à longue distance entre le proton axial H_5 ET le proton H_1 équatorial. L'écart en tout cas est conforme à ce que donne la littérature concernant un couplage à longue distance à travers 4 liaisons entre protons équatoriaux et axiaux. (68).

Compte tenu des conclusions précédentes, il est maintenant possible d'examiner les spectres de R.M.N d'un certain nombre de dérivés préparés à partir du composé monodeutérié et d'identifier de façon certaine pour chacun d'eux les deux sites en 6.

Dans chaque cas le produit majoritaire correspondra à la position b déjà définie tandis que le produit minoritaire reviendra à la position a .

Le méthyl 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-6-deutério-glucopyranoside (XIX) a été préparé par acétylation directe du méthyl 6-deutério-α-D- glucopyranoside. Son spectre de R.M.N (figure 21, page 112) a été analysé entièrement, notamment en ce qui concerne l'attribution des protons 3 et 4. L'ambiguité a pu être levée grâce aux spectres théoriques calculés pour 7 spins à l'aide d'un programme d'itéra tion LAOCOON dans les deux hypothèses et à partir des données du produit non deutérié (Figure 22, page 114). Des effets au second ordre (effet du toit, intensité des raies) doivent être pris en considération. Il apparait alors que c'est bien le proton 3 qui se trouve au champ le plus faible.

L'irradiation du deutérium confirme le résultat précédant d'une deutériation des deux protons méthyléniques dans le rapport 60/40. Dans ce cas le composé majoritaire est celui qui présente le grand couplage.

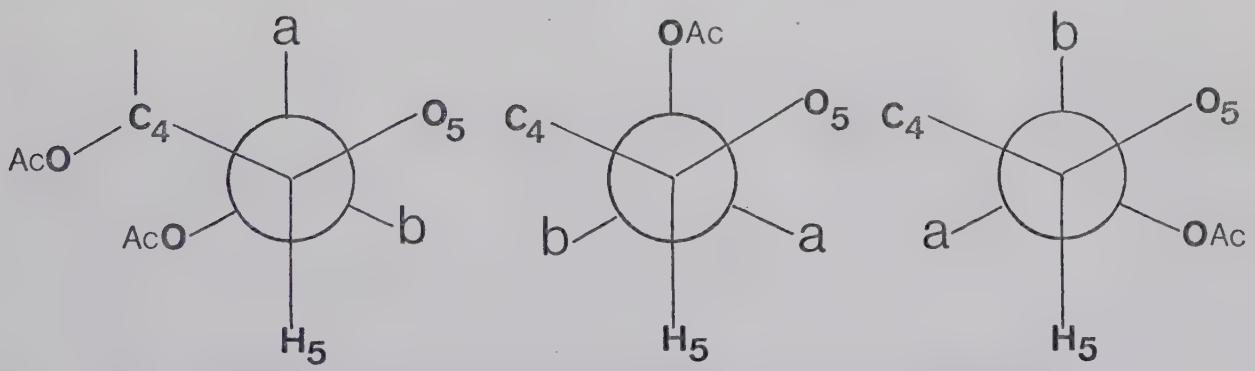
Au premier ordre, nous avons :

$\underline{J}_{5-6b} = 4,6$ cps

$\underline{J}_{5-6a} = 2,4$ cps

$\delta_{6a-6b} = 18,6$ cps

En outre, le spectre montre un nouvel exemple de couplage à longue distance affectant les signaux du proton 5. La valeur de ce couplage (0,6cps) semble là encore correspondre à une interaction axiale - équatoriale, probablement entre le proton H_5 axial et le proton H_1 équatorial. Du point de vue conformationnel, la libre rotation du C_6 sans tenir compte du fait que nous sommes surtout en présence des deux conformations chaises, conduit à un équilibre en solution des 3 rotamères suivants :



I II III

La conformation 1 présente une interaction 1,3 parallèle entre les deux groupes acétyles portés par les

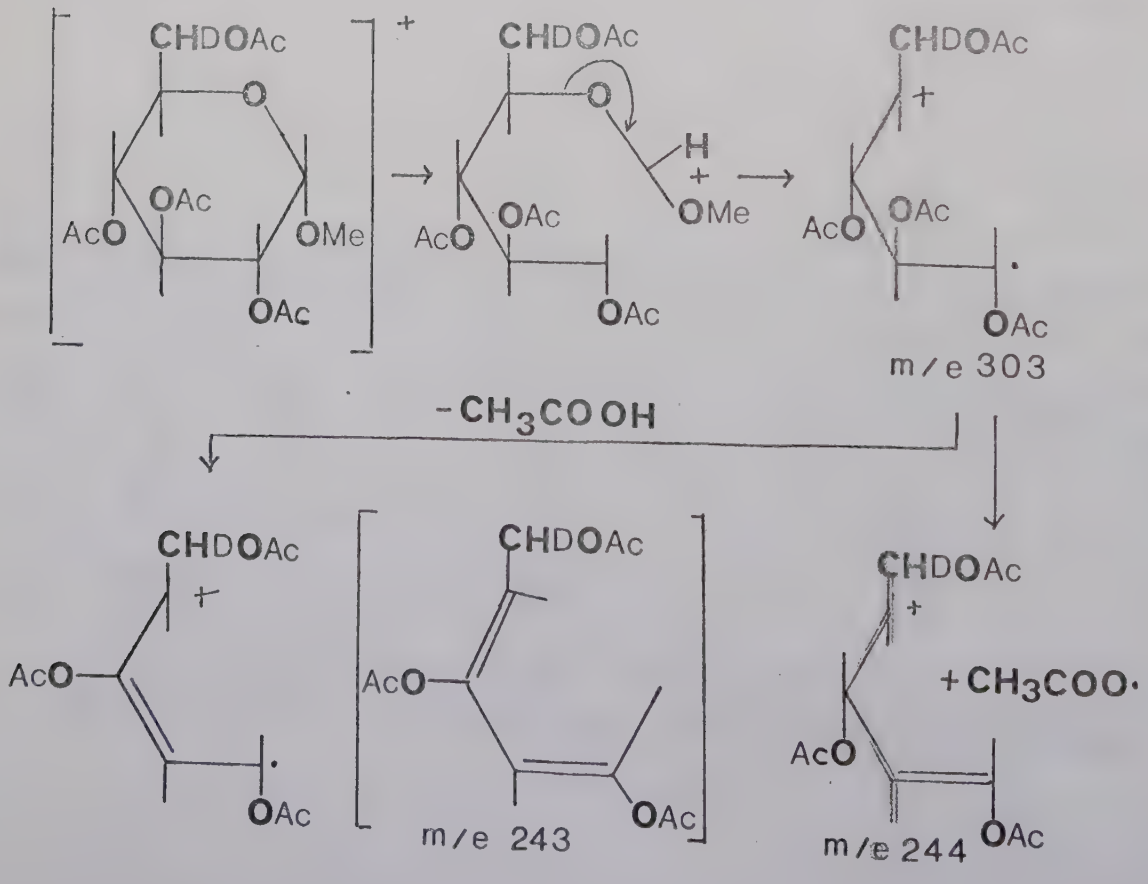
carbones 4 et 6 et doit pour cette raison être écartée car sa participation à l'équilibre conformationnel est minime. En effet, l'équilibre est déplacé vers les conformations dans lesquelles les interactions stériques entre substituants sont minimales.

La grandeur des couplages suggèrent que les deux autres rotamères (II, dans lequel les deux positions a et b sont gauches par rapport à H_5 et III, dans lequel seule la position a est gauche) doivent intervenir avec cependant une certaine prédominance pour III puisque les couplages observés ne sont pas égaux.

Le spectre de masse confirme les résultats vus prédédemment. (figure n°23 page116).

Ce spectre est conforme à ce que nous pouvons attendre.

Les principales fragmentations relatives à un dérivé hexopyranoside sont présentes. La plus importante correspond aux fragmentations suivantes (69;70).

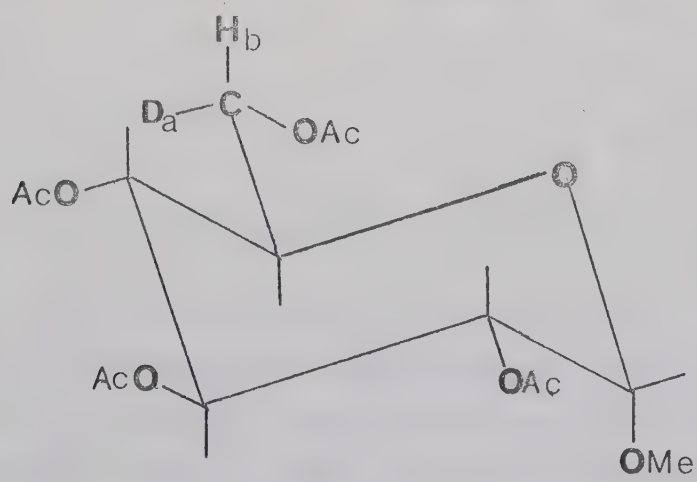


D'autre part les raies à m/e = 331, 332, 333 donnent une image exacte de la deutériation.

Raie	Intensité par rapport au pic le plus intense	%
331	2,0	6,3
332	25,1	79,2
333	4,6	14,5

Le pourcentage de produit dideutérié, compte tenu de la participation du C_{13}, est donc infime . Celui du dérivé non deutérié est inférieur à 6%.

En conclusion il s'avère que le composé majoritaire présente la structure suivante :



soit le méthyl 2,3,4,6-tétra-O-Ac-6-S-deutério-α-D-glucopyranoside.

Les autres dérivés monodeutériés étudiés concernent des composés préparés à partir du 6-deutério-glucose (XX) obtenu après hydrolyse du méthyl 6 deutério-α-D-glucopyranoside. L'hydrolyse est faite à l'acide chlorhydrique 3N et à 80°C pendant environ 16h. Nous obtenons un mélange

de glucose α et β que nous pouvons facilement mettre en évidence en chromatographie en phase gazeuse grâce à leurs dérivés triméthylsilyls.

L'hexa-O-Ac-6 deutério sorbitol (XXI) a été cristallisé après réduction du mélange de glucose α et β et acétylation complète. Comme dans les deux cas prédédents, nous avons comparé les spectres de R.M.N des produits deutérié et non deutérié afin de voir quels groupes de signaux étaient affectés par la deutériation. Dans le chloroforme deutérié les raies qui correspondent aux protons méthyléniques des deux extrémités sont assez bien résolues et sont situées dans une région ou il n'y a pas interférence avec les autres protons de la chaîne. Le spectre dans lequel le deutérium a été irradié conduit à l'analyse au promier ordre suivante : (figure n° 24, page 118)

$$J_{5-6a} = 3,8 \text{ cps}$$

$$J_{5-6b} = 5,8 \text{ cps}$$

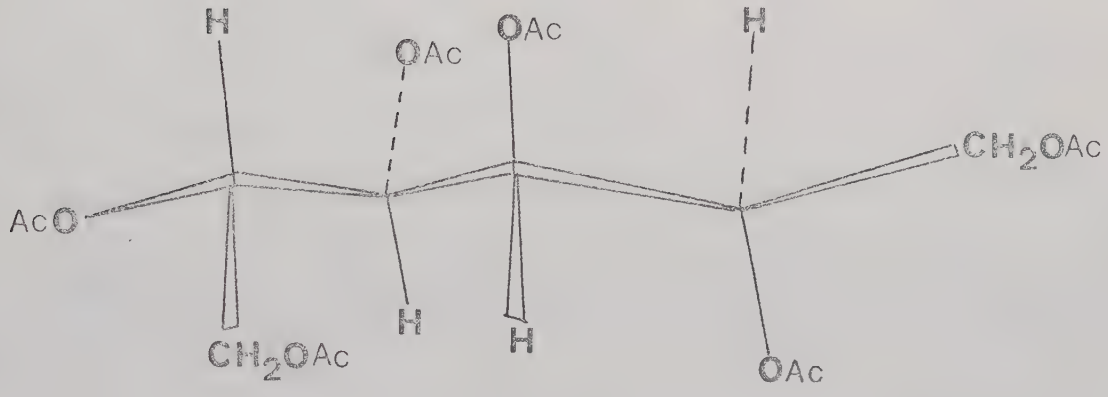
$$\delta_{6a-6b} = 15,8 \text{ cps}$$

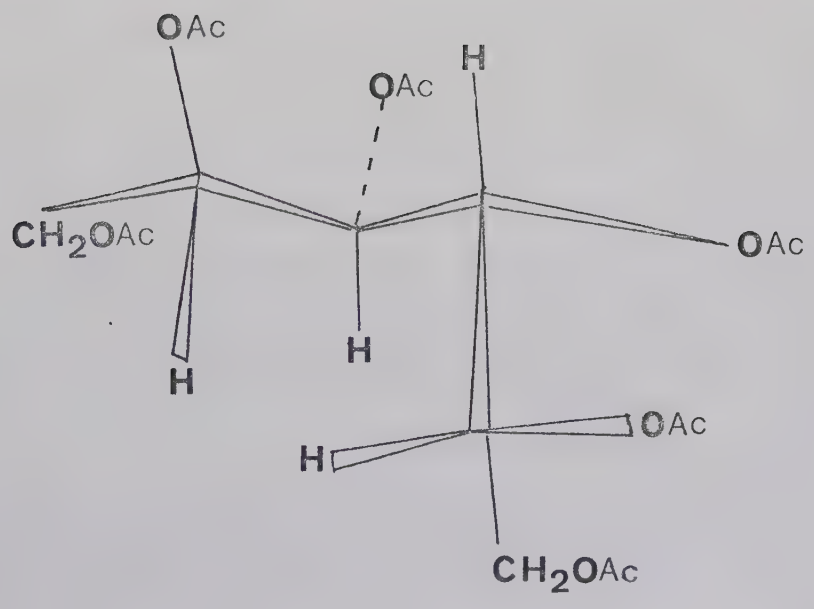
Le dérivé qui possède le grand couplage est ici majoritaire.

Du point de vue conformationnel, il est connu que les alditols acétates en solution adoptent une conformation de zig-zag planaire, sauf si cette conformation conduit à une ou plusieurs interactions 1,3 parallèles entre les groupes acétoxy, auquel cas une nouvelle conformation devient prédominante (conformation en faucille) résultant de la précédente par rotation de 120° autour d'une liaison carbone-carbone (71).

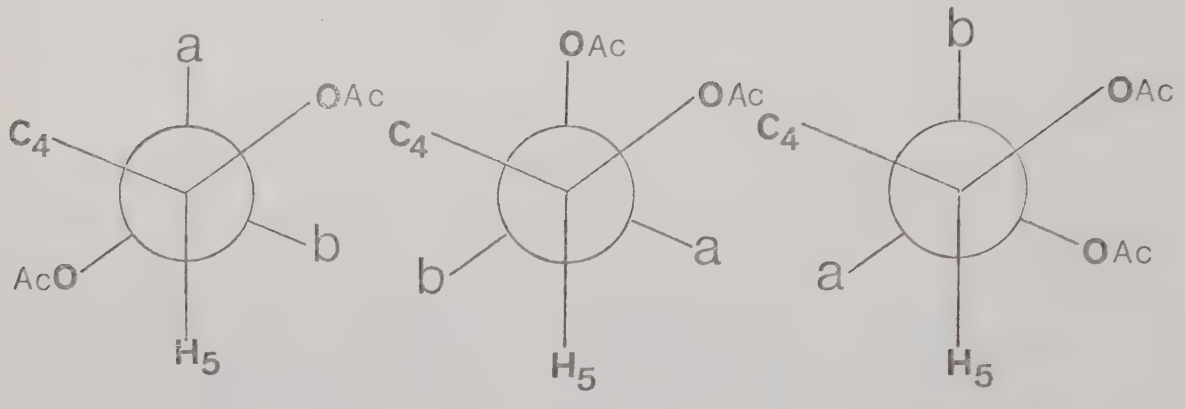
Dans le cas du D-sorbitol sous forme de zig-zag planaire une interaction $\overline{\overline{1,3}}$ parallèle existe entre O_2 et O_4. Elle peut être éliminée par rotation autour de la liaison C_2-C_3 ou de C_3-C_4. Une nouvelle interaction parallèle apparait

alors entre O_3 et O_5, que l'on peut faire disparaître par rotation autour de laliaison C_4-C_5. ANGYALS et LE FUR ont montré qu'en solution l'hexa-D-acétyl-D-glucitol est un mélange des deux conformères suivants dans le rapport de 2 pour 1.





En représentation de NEWMAN, trois rotamères sont possibles :



I II III

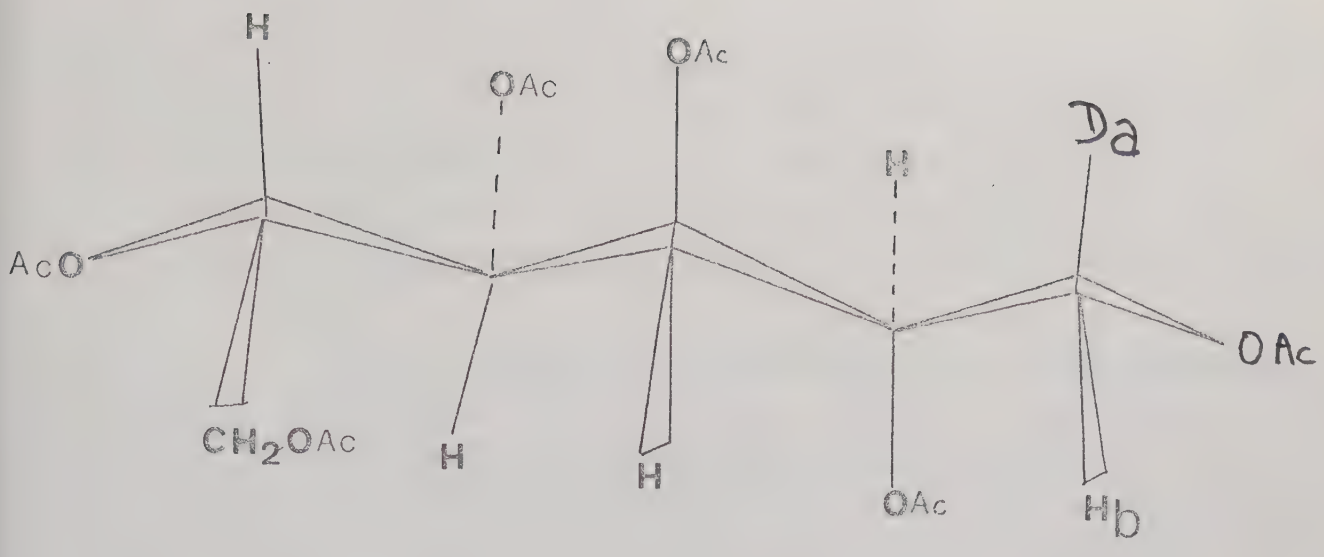
D'ailleurs la valeur des couplages J_{5-6a} et J_{5-6b} suggère qu'il y a participation des trois formes à l'équilibre conformationnel, chacune avec un taux de participation propre (72).

La conformation I présente une interaction 1,3 parallèle entre O_4 et O_6, elle n'intervient donc que très peu.

Les deux autres (II et III) participent à l'équilibre. Le rotamère III semble cependant le plus favorisé du fait qu'il possède un proton 6 antiparallèle à H_5, mais cela n'est pas exclusif.

Une autre explication de la valeur du couplage J_{5-6b} observée pourrait résider dans l'existence d'une conformation privilégiée résultant des précédentes par une légère rotation.

Quoiqu'il en soit, il est probable que le composé majoritaire est très proche de la conformation suivante :



soit l'hexa-O-acétyl-6-S-deutério-D-sorbitol dont nous avons également réalisé le spectre de masse (figure n° 25, page 120).

Le dernier dérivé étudié (avec un cycle furanosique) a été d'une préparation délicate. Nous sommes partis des α et β glucoses monodeutériés résultant de l'hydrolyse par l'acide chlorhydrique du méthyl 6-deutério-α-D- glucopyranoside. Ces composés avec l'acétone en milieu acide donnent le 1,2; 5,6-di-O-isopropylidène-D-glucofuranose monodeutérié en 6 (XXII) que nous avons hydrolysé partiellement selon le procédé de LALAND à l'aide d'une résine Amberlite (73) en tenant compte de la différence de réactivité des deux ponts isopropylidéniques. En effet, le 5,6-O-isopropylidène peut s'hydrolyser 40 fois plus vite que l'isopropylidène en position 1,2. Après acétylation le dérivé : 1,2-O-isopropylidène-3,5,6-tri-OAc-6-deutério-D-glucofuranose (XXIII) n'a pas été obtenu cristallisé. Néanmoins son spectre de R. M.N. réalisé à 100 mégacycles mais où le deutérium n'a pas été irradié conduit aux résultats suivants : (figure 26, page 122).

J_{5-6a} = 2,5 cps

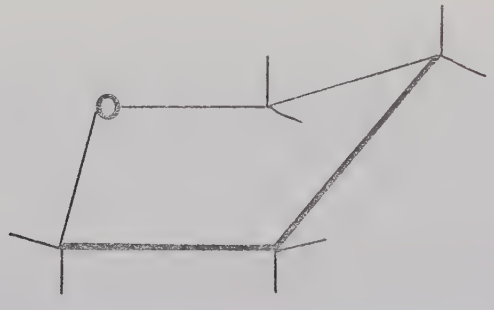
J_{5-6b} = 5,7 cps Ier Ordre

δ_{6a-6b} = 80 cps

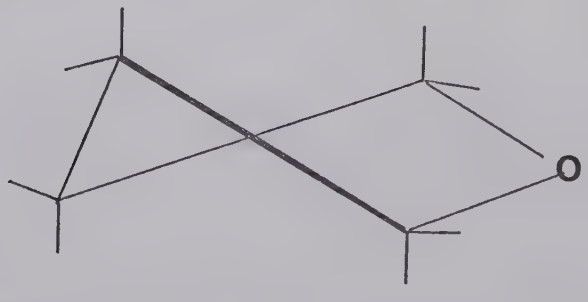
Le composé ayant le grand couplage est majoritaire.

Du point de vue conformationnel les dérivés des sucres sous forme furanosique adoptent deux formes principales (74)

- une conformation dite "enveloppe" ayant quatre atomes (y compris l'oxygène du cycle) dans un même plan ; l'autre atome étant hors du plan.



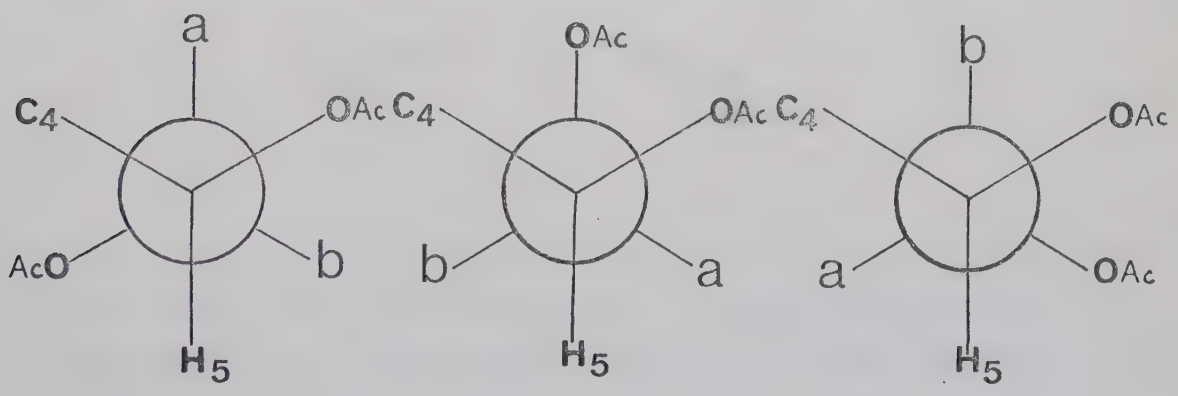
- une conformation dite "twist" ayant trois atomes adjacents coplanaires et deux autres de part et d'autre du plan.



Etant donné que la barrière d'énergie entre ces différentes formes et celles qui en dérivent directement est suffisamment petite (3-4 Kcal. mole -1) pour ne pas s'opposer à une interconversion rapide, ce que nous observons en R.M.N, ce sera un spectre moyenné des divers conformères.

D'ailleurs, dans le cas des cycles furanosiques, parce que l'emploi de l'équation de Karplus est limitée et jusqu'à ce qu'une nouvelle méthode permettant de relier les constantes de couplages vicinaux et lesangles dièdres soit trouvée, il paraît raisonnable de traiter l'étude des conformations des sucres furanosiques en solution en terme d'un équilibre entre plusieurs formes s'échangeant rapidement entre elles plutôt qu'en terme d'une forme unique, bien définie dans chaque cas.

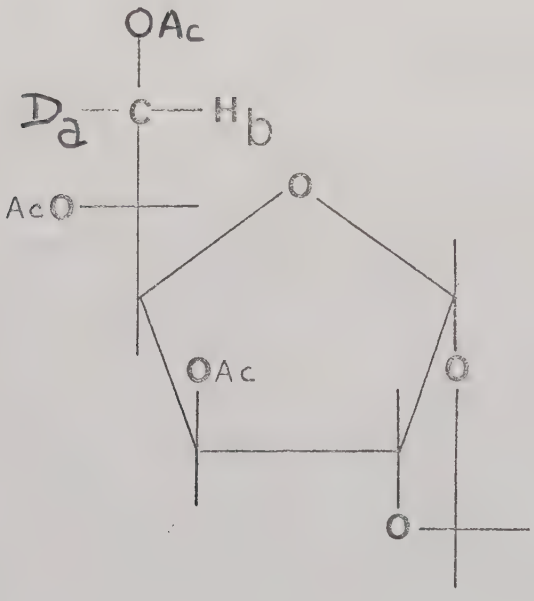
En ce qui concerne l'extrémité tous les rotamères possibles résultent de variantes des trois formes suivantes :



I II III

Chacune de ces formes possède une contribution propre à l'équilibre. Cependant, il semble probable que la forme I soit nettement défavorisée par rapport aux formes II et III à cause d'une gêne stérique existant entre l'acétate du carbone 6 et le cycle furanose. D'autre part, la valeur du couplage observée entre les protons 5 et 6b montre que c'est certainement la forme III qui a la plus forte contribution.

Le produit majoritaire est donc :

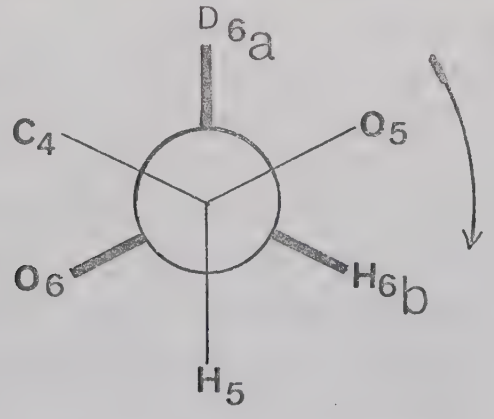


1,2-O-isopropylidène-3,5,6-tri-OAc-6-S-deutério-glucofuranose.

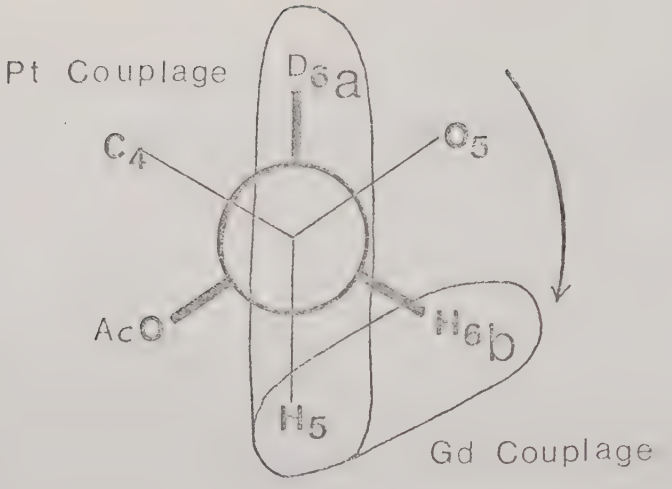
IV. 4. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les informations que nous pouvons tirer de notre étude nous amènent maintenant à reconsidérer l'attribution donnée aux protons méthyléniques dans les composés observés par HALL et coll., LEMIEUX et STEVENS, HORTON et coll.

Le dérivé benzylidénique monodeutérié que nous avons préparé et à partir duquel dépend l'attribution donné aux protons dans les autres dérivés, présente la stéréochimie suivante en ce qui concerne le produit majoritaire.

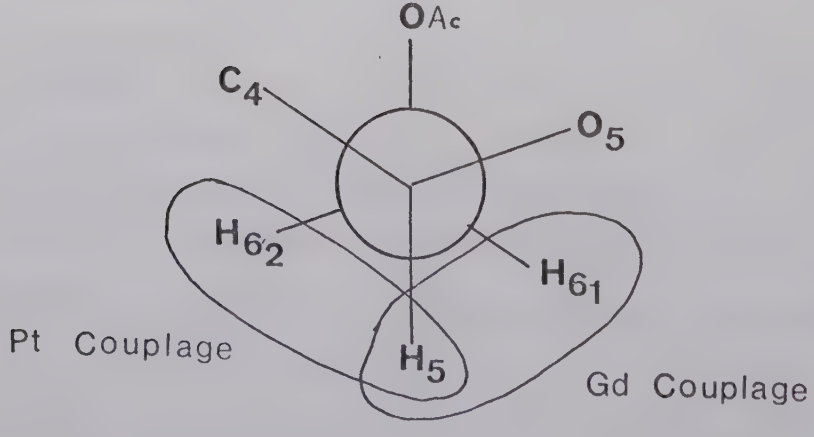


Donc, par rapport à l'oxygène 6, en regardant dans le sens C_5-C_6 et en tournant dans le sens des aiguilles d'une montre, nous rencontrons d'abord D_{6a} ensuite H_{6b}. Cette distribution, dans la mesure où il n'y a pas inversion de configuration lors de l'acétalisation et dans la mesure où il n'y a pas non plus inversion lors de la préparation des autres dérivés, doit demeurer inchangée. Par exemple, pour le méthyl 2,3,4,6-tétra-O-Ac-6-S-deutério-glucopyranoside nous pouvons vérifier que nous avons la distribution attendue:

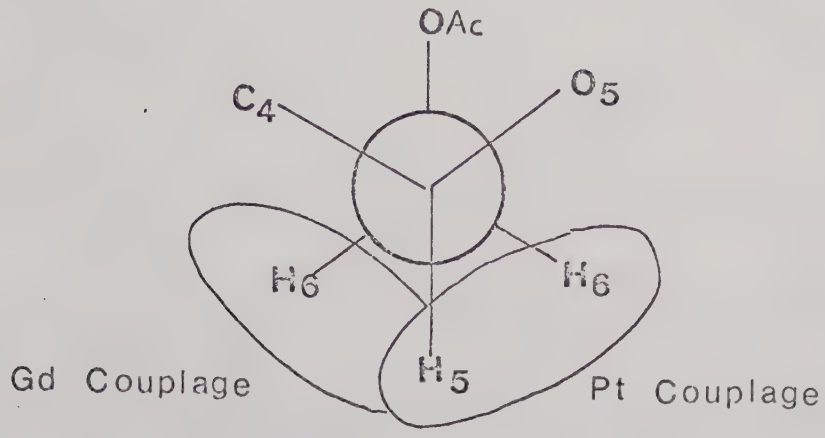


En ce qui concerne les couplages, depuis O_6, nous avons en tournant toujours dans le sens des aiguilles d'une montre, le proton qui a le petit couplage, puis celui qui a le grand couplage. C'est l'inverse dans l'exemple de HALL et Coll, alors que le résultat est bien correct dans le cas de LEMIEUX et dans celui de HORTON.

Cette conclusion n'élimine cependant pas le conformère où a et b sont gauches par rapport à H_5; mais elle élimine l'argument de HALL en faveur de l'influence d'un substituant électronégatif sur un proton qui lui est entiparallèle. En effet si la conformation que préconise HALL existe (et elle existe certainement dans une certaine porportion) elle ne peut pas posséder les caractéristiques suivantes :



Au contraire elle doit se présenter sous la forme :



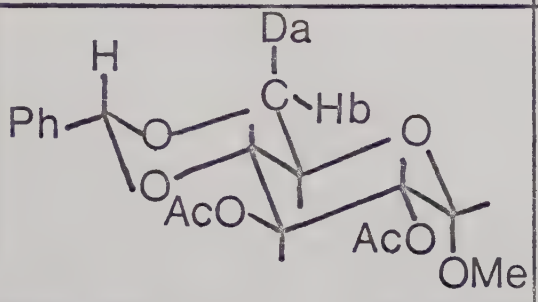
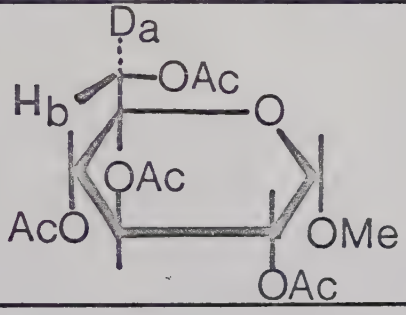
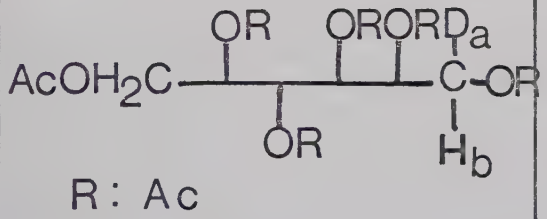
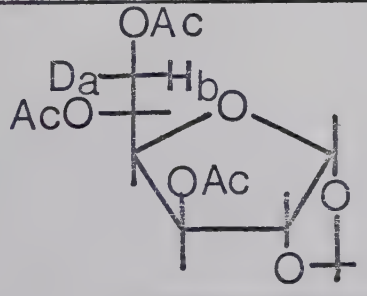
En ce qui concerne le travail de F.E. HRUSKA et coll., sur les pyrimidines-déoxyribo nucléosides, nos modèles nenous permettent pas de conclure bien que le problème soit identique, Nous pensons cependant qu'une méthode analogue sur les pentoses et dérivés pourrait être recherchée et permettrait de lever l'ambiguité constatée, ces composés étant importants en biochimie et en pharmacie. Enfin, pour terminer cette discussion, il serait bon d'examiner les conséquences que nous pouvons tirer de la confrontation de tous nos résultats (tableau VII, page102).

Du point de vue configurationnel, nous n'avons trouvé nul part la citation d'une inversion de configuration lors de l'acétalisation, en particulier lors de la formation d'un pont benzylidénique en 4,6 du méthyl α-D-glucopyranoside avec le benzaldéhyde et le chlorure de zinc.

Nous avons par conséquent supposé qu'il n'y avait pas inversion et il est peu probable qu'elle puisse exister car lorsque nous formons et lorsque nous hydrolysons un acétal il n'y a pas épimérisation du glucose.

Si nous considérons maintenant les grandeurs relatives des couplages entre les composés majoritaires et minoritaires nous constatons que les premiers correspondent aux

TABLEAU VII

Produit Majoritaire 6(S)	$J_{5\text{-}6b}$ ($J_{5\text{-}6a}$) cps	δ_{6b} (δ_{6a}) ppm
	5,05 (10,7)	4,06 (3,48)
	4,6 (2,4)	4,40 (4,23)
 R : Ac	5,8 (3,8)	4,13 (4,28)
	5,7 (2,5)	4,1 (4,7)

grands couplages sauf en ce qui concerne le dérivé benzylidénique pour lequel c'est l'inverse. Cela pourrait s'expliquer par le fait que nous n'avons pas de libre rotation dans ce dérivé qui présente une interaction forcée 1 , 3 parallèle entre deux oxygènes alors que cette interaction est toujours de faible contribution là où une libre rotation est permise.

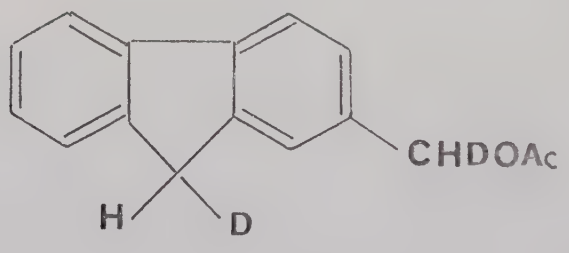
Enfin, la présence d'une chaîne -CHOAc-CHOAc ou -CHOAc -CHDOAc dans deux des dérivés semble être un facteur déterminant de l'ordre de résonance l'un par rapport à l'autre des deux protons examinés.

Parallèlement à notre étude, MARADUFU, CREE, et PERLIN (77) pour déterminer la stéréochimie de déshydrogénation du groupement carbinol primaire du D-galactose par le D-galactose oxydase ont préparé le D-galactose 6-d et le méthyl β-D-galactopyranoside-6-d.

Ils synthétisent ces composés à partir de dérivés di-O-isopropylidéniques de D-galactose et de D-galactose -6,6'-d_2 après passage aux dérivés aldéhydo et réduction par le borodeutérure ou le borohydrure de sodium. Dans les deux cas ils obtiennent un mélange des deux diastéréoisomères R et S que nous avons également rencontrés dans le cas du glucose. La stéréosélectivité trouvée est légèrement supérieure à ce que nous avons obtenu.

CONCLUSIONS GENERALES

Pour conclure ce travail nous aborderons dans ce paragraphe une des possibilités d'étude des échantillons deutériés préparés. En effet, outre la biosynthèse de la cellulose et le synthèse de polysaccharides ces composés présentent un intérêt propre eu égard à la détermination des temps de relaxation quadrupolaire du deutérium couplé à un proton. Une étude identique a déjà été réalisée, par BREVARD, KINTZINGER et LEHN (75) sur des molécules rigides du type :



Pour un noyau de spin 1, la relation qui lie le temps de relaxation quadrupolaire T_q et le temps de corrélation τ_q est la suivante :

$$T_q^{-1} = \frac{3}{8} (e^2 q Q / \hbar)^2 \tau_q$$

Tq est fonction à la fois des mouvements intramoléculaires et des réorientations affectant l'ensemble de la molécule étudiée. L'observation de Tq pour un deutéron donné conduit à déterminer un temps de corrélation local pour un site donné.

En règle générale , le signal de R.M.N que donne un proton couplé à un deutérium est un triplet (pour les Tq grands) dont on peut observer les modifications de structure par variation de température.

Le marquage au deutérium peut ainsi permettre une étude détaillée de "dynamique moléculaire" : mouvements d'ensemble, mouvements intramoléculaires locaux, empêchements stériques, taille des molécules. L'influence des intéractions intermoléculaires comme les effets de solvants, la formation de complexes peut aussi être examinée. En particulier il peut être intéressant de rechercher comment ces interactions perturbent les mouvements moléculaires locaux.

Dans tous les cas et même si une analyse détaillée n'est pas possible, le sens des variations de T_q et de $\overline{t_q}$, conduit à une information qui n'est pas sans importance chimique.

Nous nous proposons en matière de prospective de réaliser une telle étude sur nos échantillons.

FIGURE N° 18. SPECTRE DE RMN du méthyl 4,6-O-benzylidène-2,3-di-O-acétyl-6-deutério-α-D-glucopyranoside (XVIII).

- Spectre réalisé à 100 mégacycles par S. dans le chloroforme deutérié.

ON OBSERVE.

- à 1,75 ppm les signaux correspondant aux protons des groupes acétyles
- à 3 ppm le signal du groupe méthyle
- à 3,5 ppm le triplet du proton 4 sous lequel apparait le proton 6a
- entre 3,75 et 3,95 le proton 5
- à 4,1 ppm le doublet du proton 6b
- à 4,9 ppm le doublet du proton anomérique
- à 5,1 ppm le quadruplet du proton 2
- à 5,3 ppm le pic du proton benzylidénique
- à 5,9 ppm le triplet du proton 3.

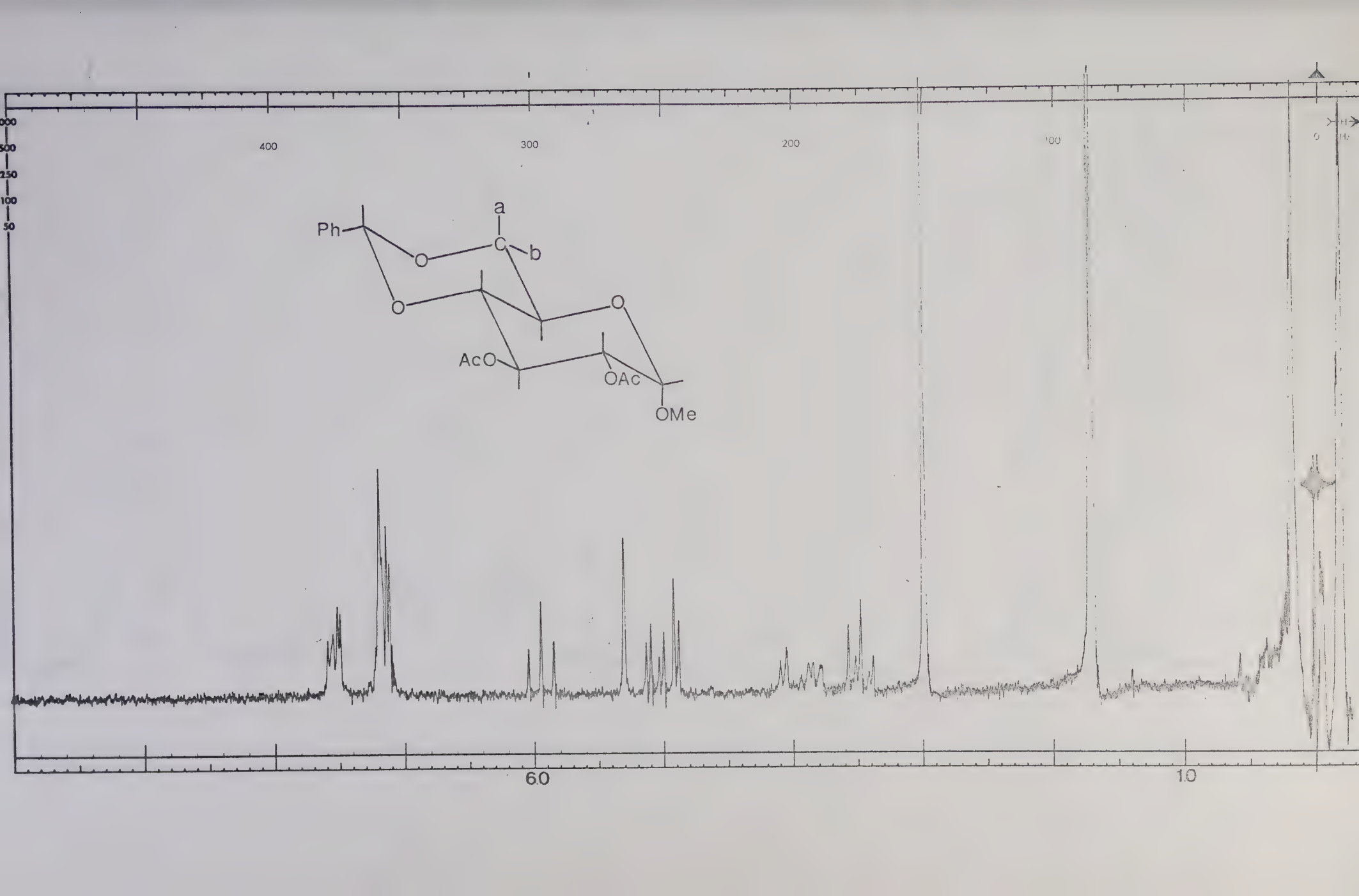

400
300
200
100
0
Ph
O
a
C
b
O
O
AcO
OAc
OMe
6.0
1.0

FIGURE N° 19. SPECTRE DE RMN du méthyl 4,6-O-benzylidène-2,3-di-O-acétyl-6-deutério-α-D-glucopyranoside (XVIII)

- Spectre réalisé à 100 mégacycles par S. dans le chloroforme deutérié (S.W. : 100).

ON OBSERVE

- un agrandissement du spectre précédent en ce qui concerne les protons 4,6a, 5,6b.

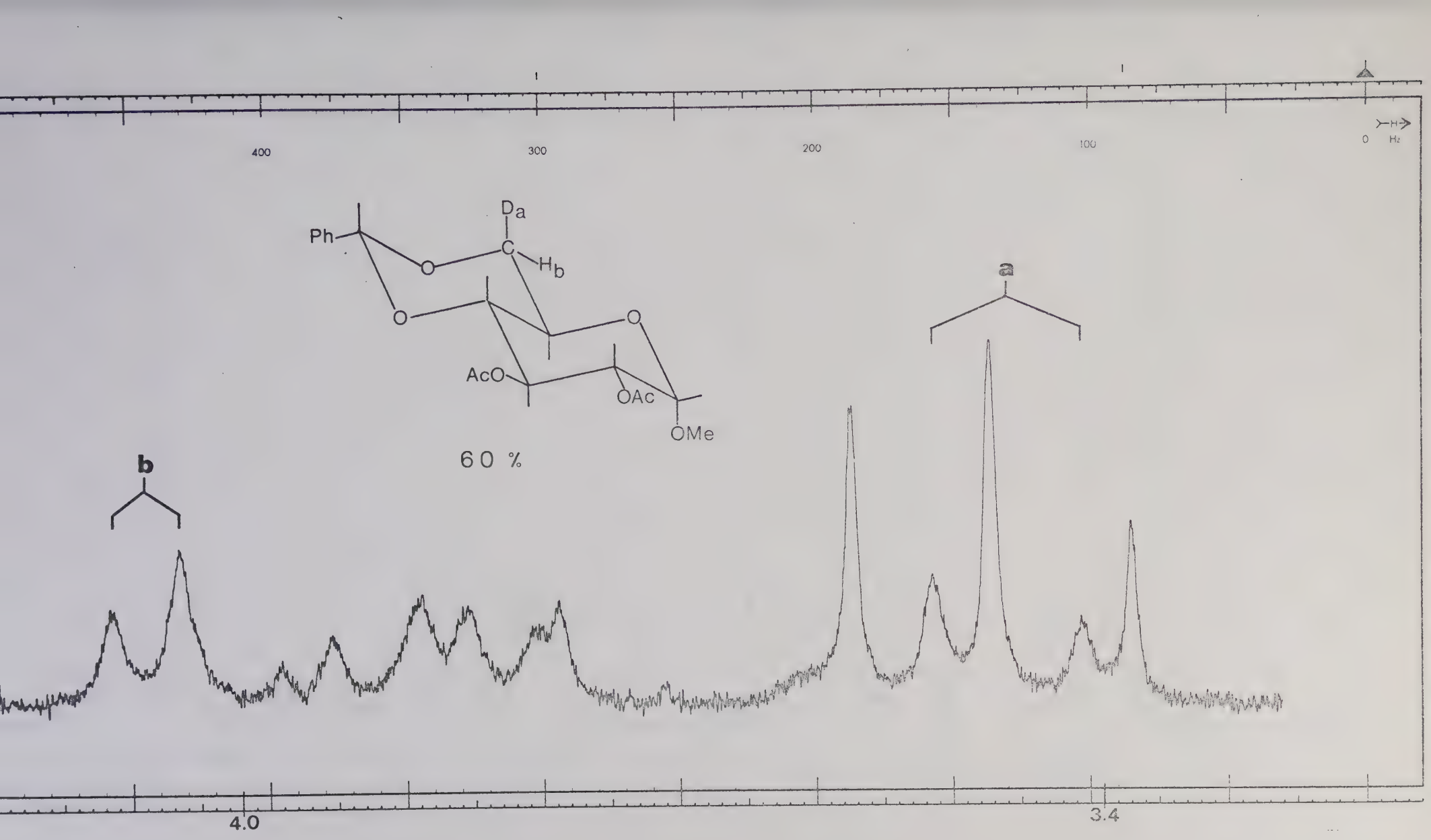

400
300
200
100
0 Hz
Ph
Da
C
Hb
O
O
O
AcO
OAc
OMe
60 %
a
b
4.0
3.4

FIGURE N°20. SPECTRE DE RMN du méthyl 4,6-O-benzylidène 2,3-di-O-acétyl-6-deutério-α-D-glucopyranoside (XVIII).

- Spectre réalisé à 100 mégacycles /S. dans le chloroforme deutérié (SW : 100)

ON OBSERVE

- l'irradiation du deutérium qui permet en supprimant le couplage entre un proton et un deutéron d'affiner la structure des signaux correspondant aux hydrogènes non échangés.

- le couplage à longue distance entre le proton 5 et vraisemblablement le proton 1 (J = 0,5cps).

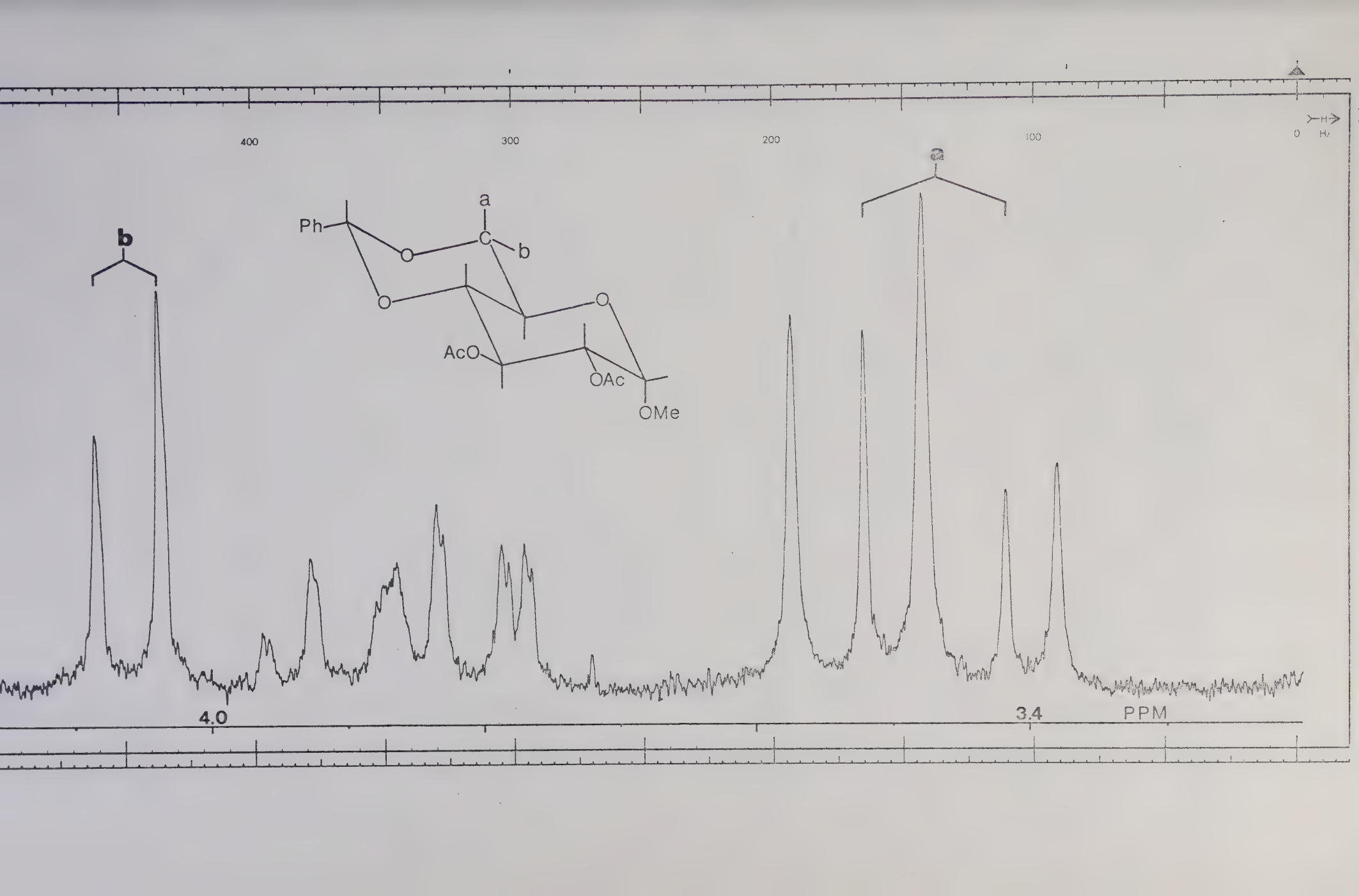

400
300
200
100
0 Hz
a
b
Ph
O
C
b
O
O
AcO
OAc
OMe
4.0
3.4
PPM

FIGURE N° 21. SPECTRE DE RMN du méthyl 2,3 , 4,6-tétra-O acétyl-6-deutério-α-D-glucopyranoside (XIX)

-Spectre réalisé à 100 mégacycles /S. dans le benzène deutérié (SW / 100) et dans lequel le deutérium a été irradié.

ON OBSERVE

- Depuis les champs forts les signaux des protons 5, 6a et 6b

- Le couplage à longue distance entre le proton 5 et vraisemblablement le proton 1 (J = 0,6 cps).

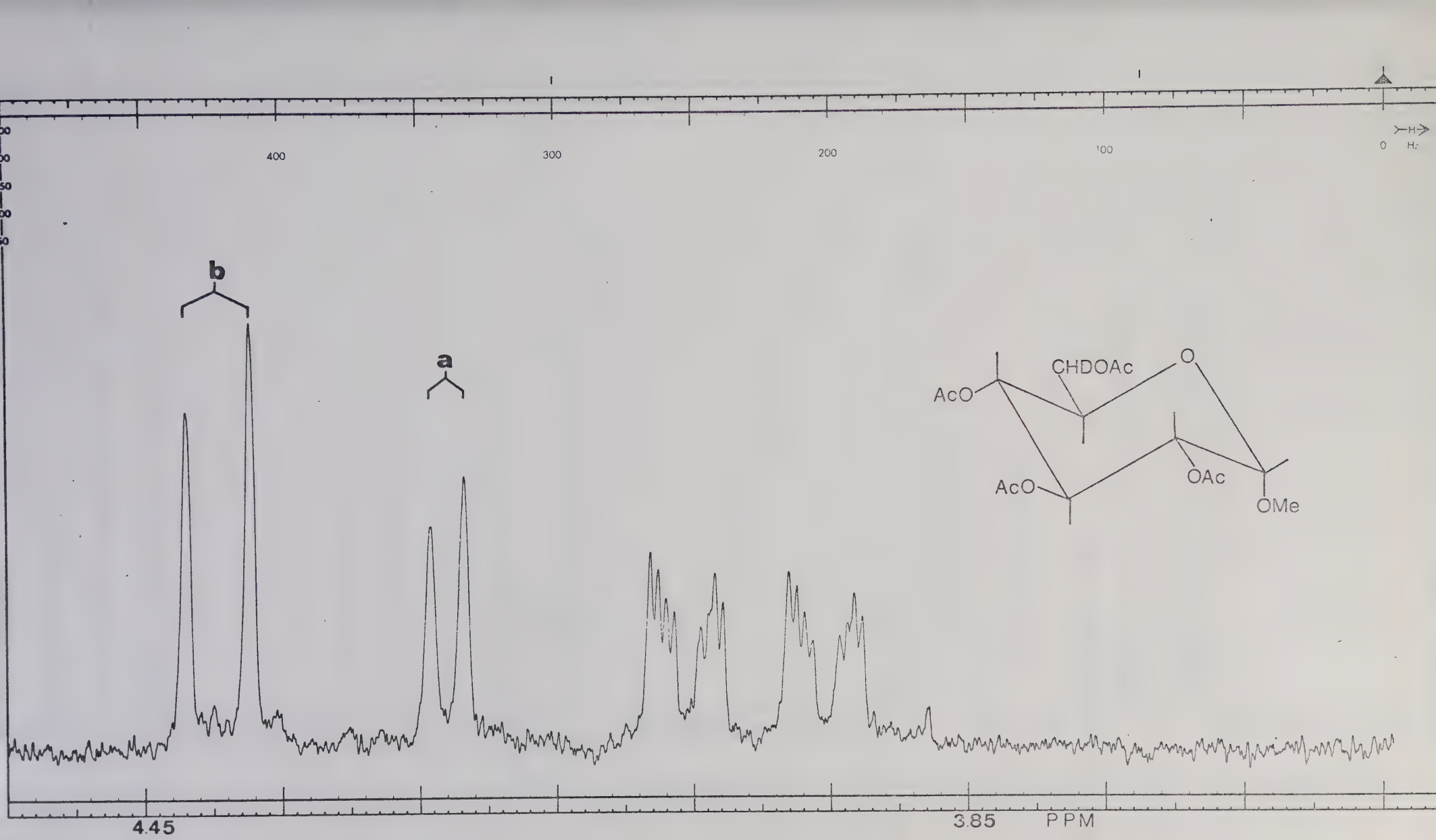

400
300
200
100
0 Hz
b
a
CHDOAc
O
AcO
AcO
OAc
OMe
4.45
3.85
PPM

FIGURE N° 22. SPECTRE DE RMN du méthyl 2,3,4,6,tétra-O-acétyl-α-D- glucopyranoside.

- Spectre réalisé à 100 mégacycles / S. dans le benzène deutérié (SW = 250)

ON OBSERVE

- Tous les protons du cycle soit, depuis les champs forts : H_5, H_{6a}, H_{6b}, H_1, H_2, H_4 et H_3

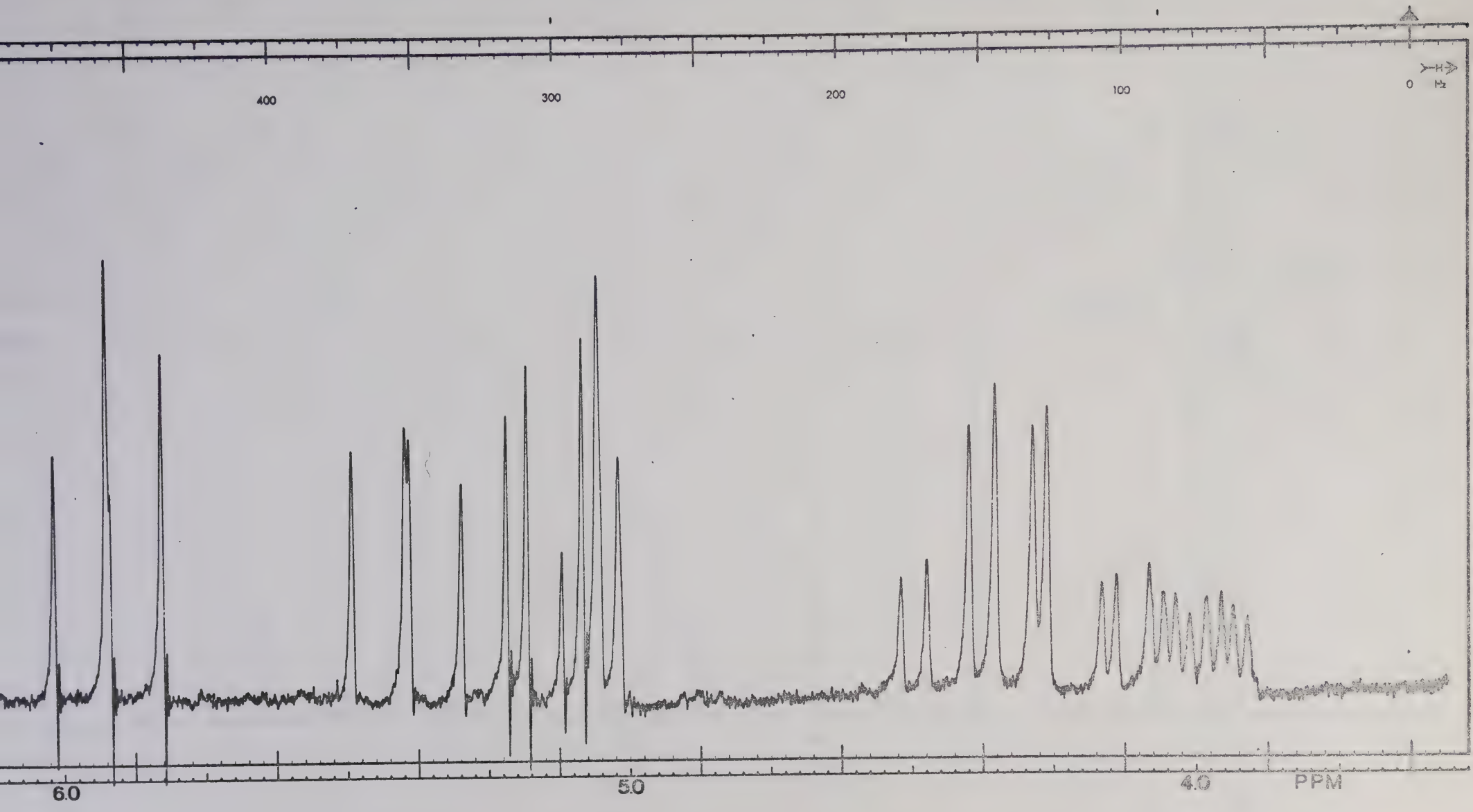

400
300
200
100
0
Hz
6.0
5.0
4.0
PPM

FIGURE N° 23 . SPECTRE DE MASSE du méthyl 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-6-deutério-α-D-glucopyranoside (XIX).

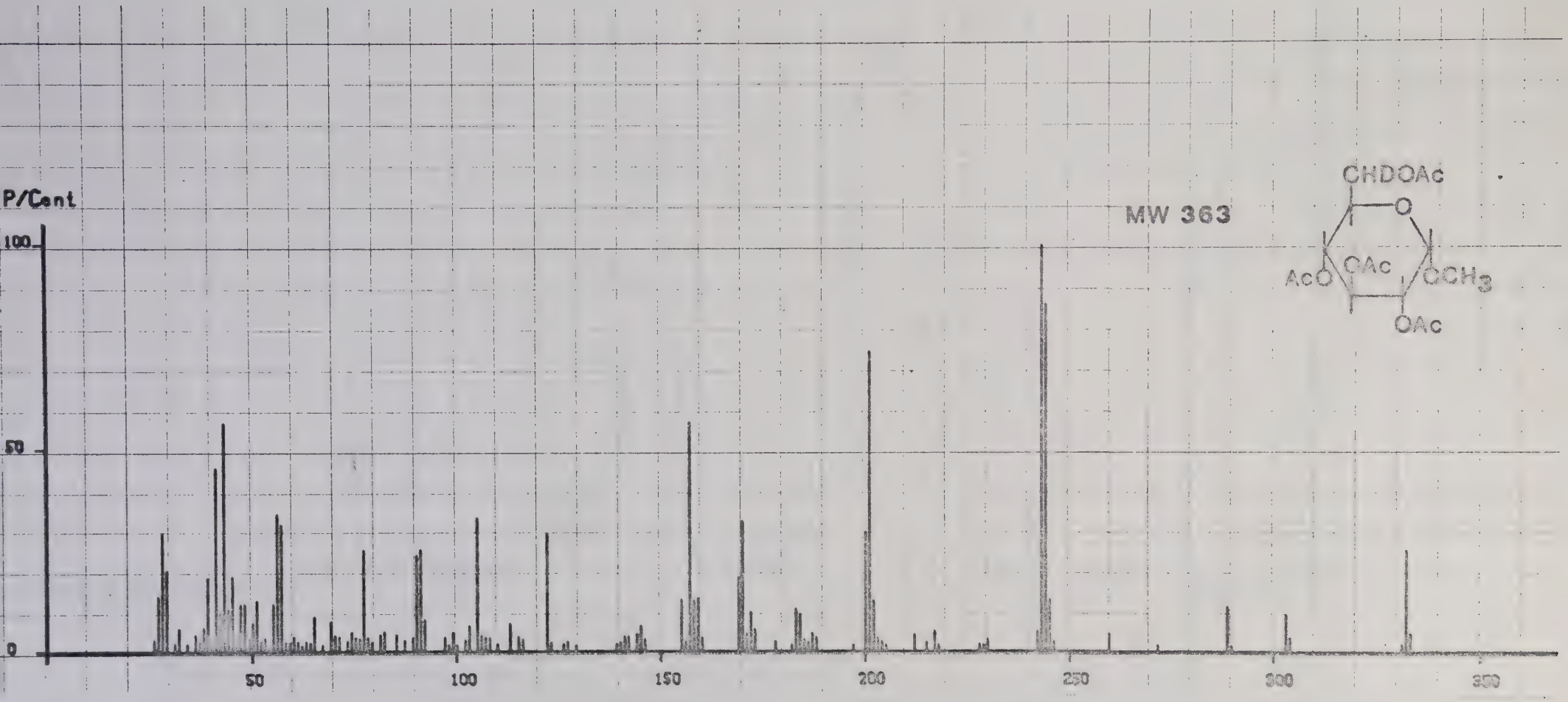

P/Cent
100
50
0
MW 363
CHDOAc
AcO
OAc
OCH3
OAc
50
100
150
200
250
300
350

FIGURE N° 24. SPECTRE DE RMN de l'hexa-O-acétyl-6-deutério sorbitol (XXI).

- Spectre réalisé à 100 mégacycles/S. dans le chloroforme deutérié (SW 100) et dans lequel le deutérium a été irradié.

ON OBSERVE

- La superposition de tous les protons méthyléniques de la chaine (H_1, H_2 et H_{6a}, H_{6b}).

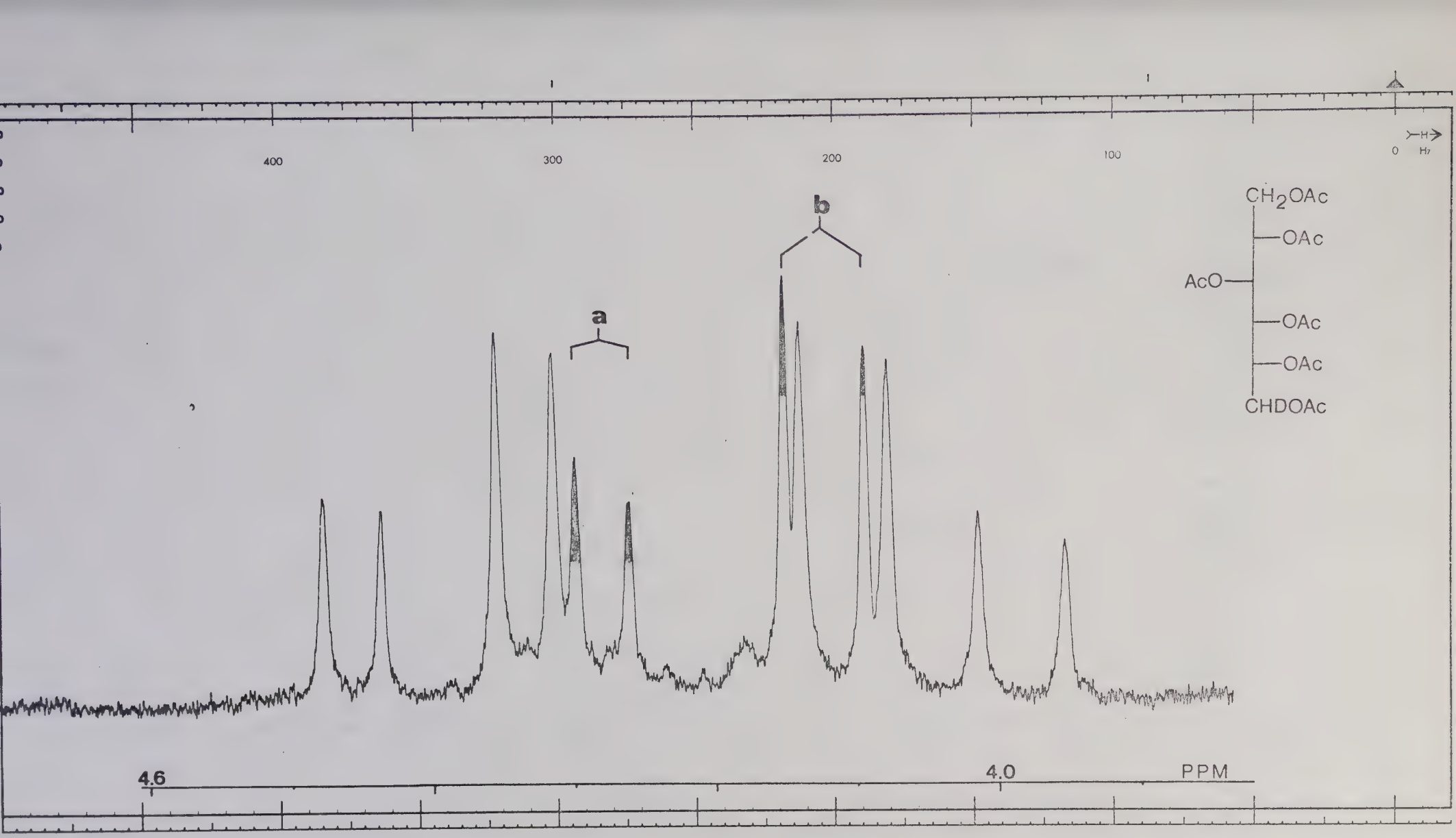

400
300
200
100
0
Hz
a
b
CH2OAc
OAc
AcO
OAc
OAc
CHDOAc
4.6
4.0
PPM

FIGURE N°25. SPECTRE DE MASSE de l'hexa-O-acétyl-6-deutério sorbitol (XXI).

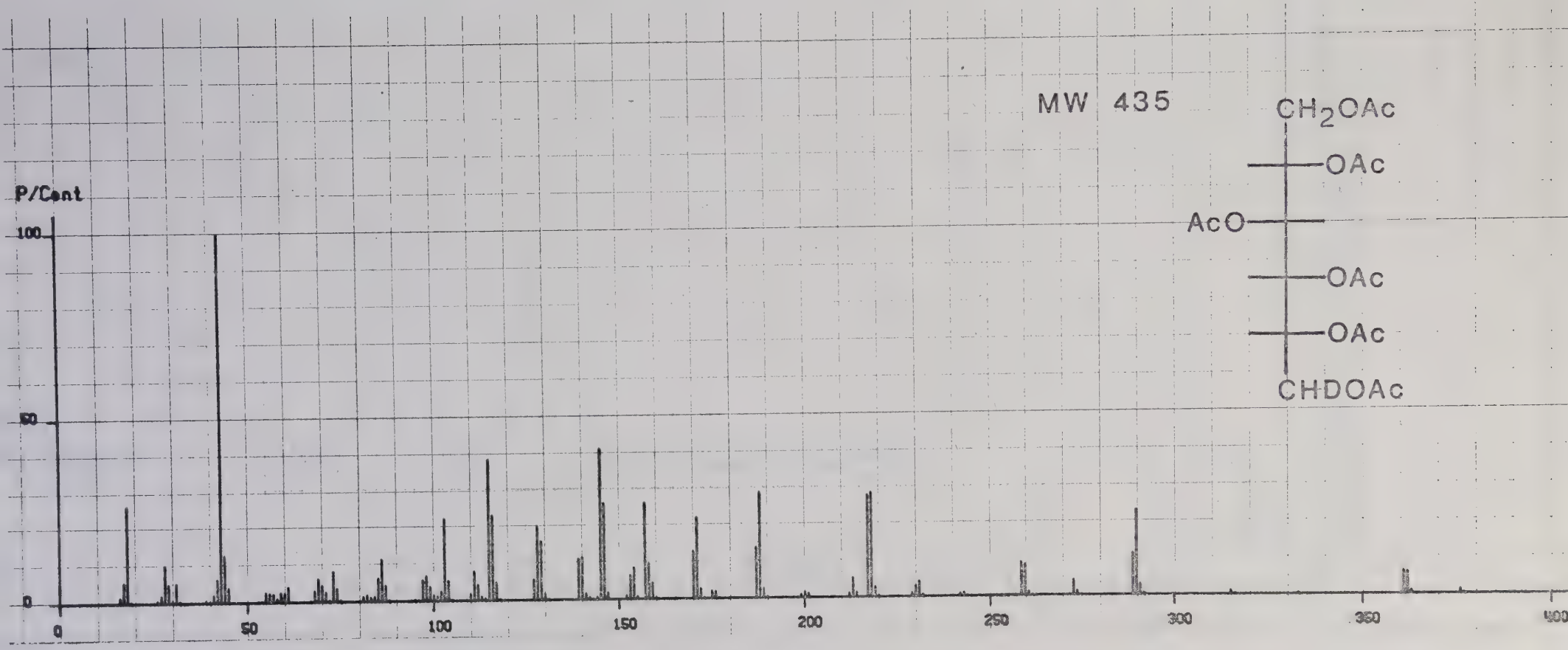
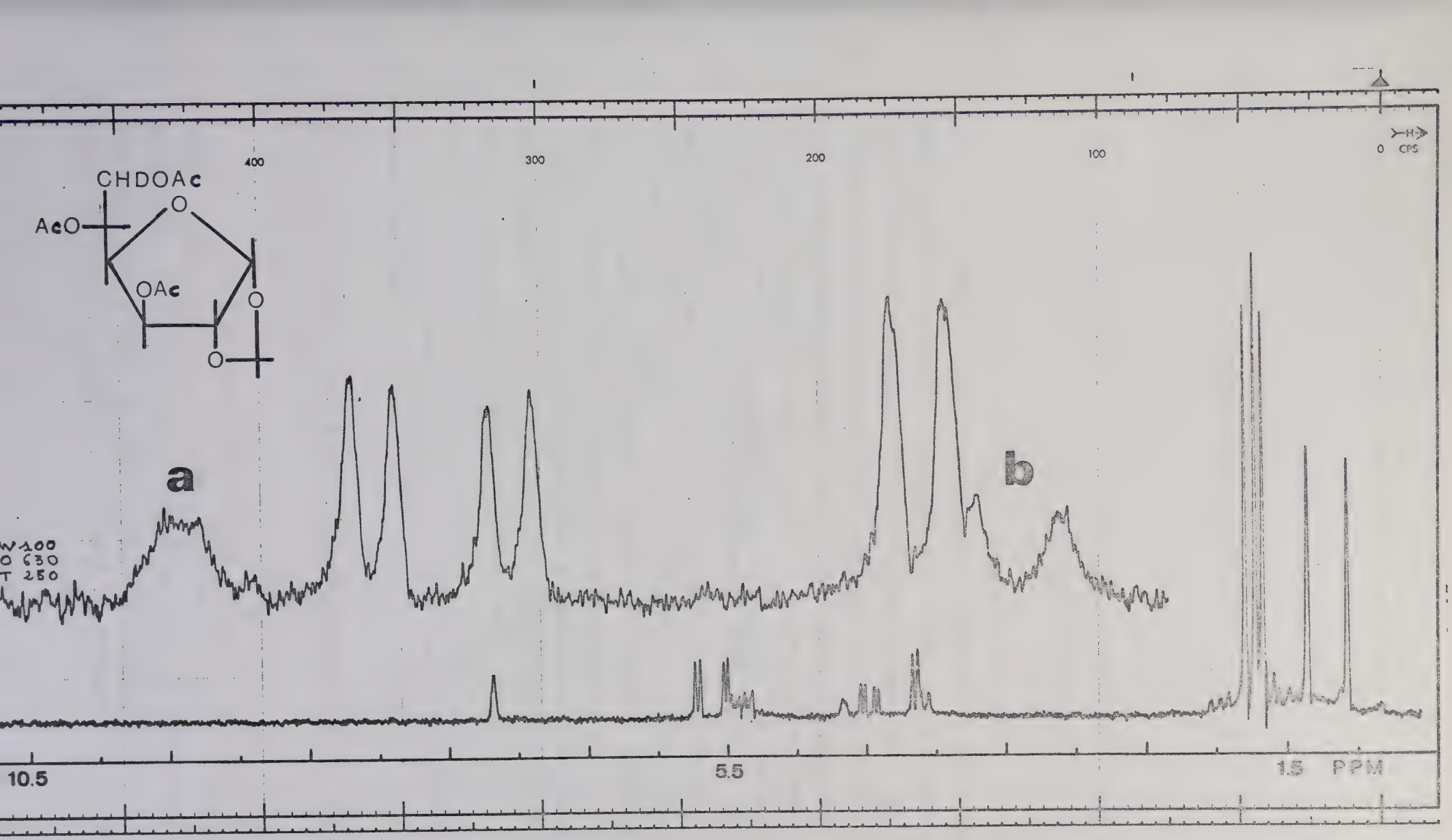

MW 435
CH2OAc
OAc
AcO
OAc
OAc
CHDOAc
P/Cent
100
50
0
0
50
100
150
200
250
300
350
400

FIGURE N° 26. SPECTRE DE RMN du 1,2-O-isopropylidène-3,5,6-tri-O-acétyl-6-deutério-D-glucofuranose (XXIII).

- Spectre à 100 mégacycles/S. dans le benzène deutérié (SW 100 et 100).

ON OBSERVE pour SW = 100

- Un massif correspondant au proton 6b
- le doublet du proton 2
- le quadruplet du proton 4
- le massif correspondant au proton 6a.


CHDOAc
AcO
OAc
O
O
O
400
300
200
100
0 CPS
a
b
W 100
O 630
T 250
10.5
5.5
1.5 PPM

C H A P I T R E V

PARTIES EXPERIMENTALES

V. 1. DEUTERIATION EN 2.

A. Préparation de l'amide de l'acide gluconique (I).

On part de 20g de δ lactone gluconique que l'on dissout dans 350cc d'ammoniac liquide (distillé). Le flacon dans lequel on opère est équipé d'un système permettant de faire passer un courant d'air ou d'azote sec pour faciliter l'évaporation de l'ammoniac. Après une heure une grande partie de l'ammoniac s'est évaporée. On se débarrasse des traces à l'aide d'un dessicateur à vide. Il reste alors dans le flacon un résidu cristallin blanc (PF = 137°C) qui est dissous dans la quantité minimale d'eau bouillante. La solution est ensuite saturée à chaud, par addition d'alcool éthylique ou d'éther diméthylique de l'éthylène glycol. Pendant le refroidissement à température ambiante, l'amide cristallise progressivement sous forme de fines aiguilles brillantes. Après une nuit au réfrigérateur l'amide (I) est filtrée sur buchner et séché à 60°C sous vide. 15g du dérivé (I) sont ainsi obtenu. Rendement : 70% PF = 143°C.

$(\alpha)_D^{20}$ = + 31 C= 2

Le spectre de R.M.N du composé a été réalisé dans l'eau lourde.

B. Préparation du dérivé di-O-isopropylidènique de l'amide gluconique (II).

10 g d'amide gluconique (I) sont mélangés à 80-100cc d'acétone anhydre. La solution est agitée fortement. On ajoute 8g de chlorure de zinc anhydre et 500mg d'acide phosphorique à 85%. Le mélange réactionnel est alors placé sous agitation pendant 35 heures à la température ordinaire.

La solution obtenue est filtrée et neutralisée à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium (50g dans 50cc d'eau). Le précipité formé est filtré et lavé soigneusement à l'acétone. Le filtrat est recueilli, ainsi que l'acétone ayant servi au lavage, et évaporé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le sirop obtenu est dilué dans 50cc d'eau et le dérivé (II) extrait au chloroforme (6x50cc). Les différentes fractions sont rassemblées, lavées successivement au carbonate de sodium, au chlorure de sodium puis à l'eau, séchées sur sulfate de sodium pendant une nuit et enfin concentrées jusqu'à saturation à 50°C. Le dérivé (II) cristallise au bout de quelques heures sous forme de fibres blanches et brillantes. Après séchage dans un dessicateur chauffant (60°C) et sous vide poussé, on obtient 7g (rendement 50%) d'un produit dont le point de fusion est de 148°C, $(\alpha)_D^{20} = + 31°$ (c = 1,4, $CHCl_3$).

MICROANALYSE :

$C_{12}H_{21}O_6N$

Calculées :	C: 52,36	O : 34,9	N : 5,09
Trouvées :	C: 52,39	O : 35,03	N : 4,92

Le spectre de R.M.N à 100 mégacycles du composé dans la pyridine deutériée a été réalisé ainsi que son spectre I.R.

C. Oxydation du dérivé (II).

2 g du produit(II) sont solubilisés dans 24ml de DMSO (purifié par distillation sur hydrure de calcium et sous pression réduite puis deshydraté sur tamis moléculaire) et 16ml d'anhydride acétique (porté à reflux sur carbure de calcium pendant 48 heures et distillé). Le mélange est agité

lentement sous azote, à la température ordinaire pendant 80 heures jusqu'à obtention d'une belle coloration jaune paille. Il est ensuite lyophilisé. Le résidu est récupéré à l'éther, soumis à une distillation moléculaire, puis chromatographié sur une colonne de kieselgel 0,05 - 0,20mm. La chromatographie est réalisée à débit maximum en utilisant l'éther éthylique comme éluant. L'analyse des différentes fractions par I.R. et C.P.G. montre que le produit oxydé correspond au deuxième anneau qui colore la colonne et qui est aussi le plus important. La C.P.G. est réalisée sur un appareil Aérograph 700 à l'aide d'une colonne silicone S.E. 30. On recueille environ 1g de produit oxydé (rendement 50%).

D. Réduction du dérivé oxydé.

500mg de dérivé oxydé sont dissous dans 20cc d'une solution d'éthanol à 70%. Le mélange est refroidi dans un bain de glace et traité par le borohydrure de sodium (450mg) pendant 1 heure sous agitation.

L'ensemble est ensuite versé dans 30cc d'eau froide et le produit réduit extrait par l'acétate d'éthyle (8x20cc) On facilite la séparation entre les phases organiques et aqueuses en ajoutant une petite quantité de chlorure de sodium. Les fractions organiques recueillies sont lavées avec un peu d'eau, séchées sur sulfate de sodium puis concentrées. Le produit (II) cristallise dans le chloroforme. Ce résultat est vérifié par R.M.N et par C.P.G. PF : 148°C. Rendement 75%.

E. 2-deutério-3,4;5,6-di-O-isopropylidène-D- gluconamide (III).

Le procédé est le même que précédemment et le rendement identique. Le spectre de R.M.N à 100 mégacycles du composé dans la pyridine deutériée a été réalisé.

F. 2-O- acétyl-3,4;5,6-di-O-isopropylidène-D-gluconamide (IV)

200mg de di-O-isopropylidène-D-gluconamide (II) sont acétylés par le mélange pyridine anhydride acétique. Le produit (IV) cristallise spontanément après plusieurs évaporations successives au toluène pour éliminer les réactifs . PF = 154°C.

Son spectre de R.M.N à 100 mégacycles dans le chloroforme deutérié a été réalisé.

V.2. DEUTERIATION EN 6,6' et en 1.

A. 1,2-O-isopropylidène-D-glucuronolactone (V).

45g de γ glucuronolactone sont mis dans un ballon équipé d'une colonne réfrigérante et d'un tube desséchant et agités pendant 30 heures à la température ambiante avec 5ml d'acide sulfurique concentré et 1l d'acétone. Le mélange réactionnel couleur d'ambre est neutralisé sur une colonne Amberlite I.R. 45 OH^- (70g) préalablement régénérée à l'ammoniaque 4% et lavée à l'eau puis à l'acétone.

Le filtrat est évaporée. Un produit blanc précipite. Il est recristallisé dans le mélange éther de pétrole-éther éthylique 50/50. Nous obtenons 35g du dérivé (V) avec un rendement de 70%. PF = 120°C.

B. 6,6-di-deutério-α-β-D-glucopyranose (VI).

21,5g du dérivé (V) sont dissous dans 300ml d'eau. On ajoute goutte à goutte successivement 4g de $NaBD_4$ dans 40ml d'eau pendant 1 heure. Puis 30mm après, 1g de $NaBD_4$ dans 10ml d'eau.

L'agitation est maintenue 2heures. Le mélange réactionnel est évaporé, repris plusieurs fois par un peu de

méthanol et évaporé à nouveau. Le produit obtenu est alors dissous dans 500ml de méthanol à 50% additionné de 8ml d'acide sulfurique concentré. On chauffe pendant 4 heures à 100°C.

La solution est refroidie et passée successivement sur une colonne AmberliteI.R. 120 H^+ (50g) puis sur une colonne Amberlite I.R. 45 OH^- (100g).

L'éluat (neutre au papier pH) est évaporé. Après séchage, une fraction du produit recueilli est silylée et injectée dans un appareil de chromatographie en phase gazeuse pour vérifier la présence des deux dérivés α et β du glucose dideutérié. (VI).

C. Acétylation du produit (VI) (100mg).

1. Par le mélange pyridine-anhydride acétique .

Après 16 heures d'agitation à la température ambiante le mélange réactionnel est versé dans 15ml d'eau glacée et placé au réfrigérateur . Un produit blanc précipite. Il est recueilli, lavé puis repris à l'éthanol dans lequel il ne cristallise pas (250mg). Cependant en C.P.G nous vérifions qu'il s'agit bien d'un mélange de penta-O-acétyl-6,6'-dideutério α et β glucopyranose. (VIIa).

2. Par l'anhydride acétique et l'acétate de sodium

100mg du produit (VI) mélangés à 15mg d'acétate de sodium anhydre dans 2ml d'anhydride acétique sont chauffés à 100°C pendant 5 heures dans un ballon de 25ml équipéd'un réfrigérant. Après refroidissement on ajoute 10ml d'eau froide et on place le ballon au réfrigérateur. Le dérivé penta-O-acétyl-6,6'-dideutério-β-D-glucopyranose précipite. (VIIb). Il est filtré, lavé, et recueilli sous forme d'une poudre blanche (180 mg) dont nous avons réalisé le spectre de R.M.N au HA 100 dans le benzène deutérié et le spectre de masse.

D. 6,6', 1-trideutério-α-β-D-glucopyranose (X).

2g de glucose (VI) et 6,6g de benzoate de Baryum

sont dissous dans 150ml d'eau distillée. Après 15mm d'agitation à 0°C (bain de glace) on verse 0,66ml de brome dans le mélange réactionnel. On maintient l'agitation pendant 2 heures à 0°C. La solution est ensuite laissée 36 heures au repos à l'abri de la lumière.

On filtre les suspensions (acide benzoïque) sur verre fritté N° 3 qu'on lave avec 100ml d'eau. Les eaux de lavage sont jointes au filtrat. Celui ci est évaporé longuement pour éliminer le brome. On ajoute 7,5 ml d'acide sulfurique 6 N jusqu'à précipitation totale de $BaSO_4$ et on filtre le mélange additionné d'une spatule de charbon actif, sur verre fritté N° 4. Le précipité est débarassé de l'acide benzoïque restant par extraction au chloroforme (4x100ml).

D'autre part un précipité frais de carbonate d'argent est préparé à partir de 3,4g de nitrate d'argent et de 1,7g de bicarbonate de sodium dissous dans 10ml d'eau. Le précipité est filtré, rincé et ajouté immédiatement au filtrat précédent pour éliminer l'acide bromhydrique formé.

Après filtration sur verre fritté N° 5 la solution recueillie est concentrée jusqu'à 100ml.

Elle est ensuite neutralisée au carbonate de calcium en amenant à ébullition et sous agitation le pH de 1 à 5. On filtre et on concentre jusqu'à 10ml. Le gluconate de calcium (VIII) formé est précipité dans l'alcool éthylique R.P. et séché (2,4g).

Il est dissous ensuite dans 15ml d'eau avec 650mg d'acide oxalique. L'oxalate de calcium précipite. Après addition de 10ml de dioxanne on filtre et on lave à l'eau. La solution restante est évaporée sous vide puis réduite par 170mg de $NaBD_4$ dans 10 ml d'eau (maintenir le pH entre 3 et 4 par addition d'acide sulfurique N). Dix minutes après la fin de la réaction on amène le pH à 2. La solution est alors évaporée plusieurs fois au méthanol, puis passée sur résines

- Amberlite I.R. 120 H^+ (10g)
- Amberlite I.R. 45 OH^- (20g)

Après évaporation on obtient un sirop jaunâtre qui refuse de cristalliser (X), mais qui présente bien deux pics correspondants aux dérivés α et β en C.P.G. Nous l'avons acétylé par le mélange pyridine anhydride acétique et obtenu un sirop (XI) dont nous avons fait un spectre de masse.

V. 3. DEUTERIATION EN 6 ou 6'.

Pour la préparation du méthyl 2,3,4-tri-O-acétyl 6-chloro-6-déoxy- α -D-glucopyranoside (XII) et du dérivé 6-azido correspondant (XIII) nous avons strictement suivi le procédé décrit par HORTON (seule la déestérification à pH 10 a été testée à la phénol phtaléine au lieu de papier pH).

Le produit (XIII) obtenu est ensuite photolysé dans le cyclohexane (distillé sur $LiAlH_4$) à l'aide d'une lampe à vapeur de mercure (basse pression) placée dans une cellule réfrigérée, en quartz ; l'ensemble étant fixé dans un réacteur pyrex. La réaction est controlée par chromatographie sur plaques de silice.

La déacétylation, l'hydrolyse (conduisant au dérivé méthyl 6-aldéhydo-α-D-gluco-hexodialdo-1,5-pyranoside (XV), et la réduction (par le borodeutérure de sodium au lieu du borohydrure) conduisent au méthyl 6-deutério-α -D-glucopyranoside (XVI) conformément au schéma réactionnel de HORTON.

En outre les spectres de R.M.N à 60 mégacycles /S et les spectres I.R. de ces composés ont été réalisés.

Nos rendements sont en accord avec ceux de HORTON.

On obtient 1,250g de produit réduit (XVI) pour 4g de 6-azido (XIII) photolysé.

A partir du produit mono-deutérié (XVI) nous avons préparé les quatre dérivés suivants :

A. Méthyl 4,6-O-benzylidène -2,3-di-O-acétyl-6-deutério-α D-glucopyranoside (XVIII).

Nous le préparons en deux étapes à partir de 500mg du produit (XVI).

a). Synthèse du méthyl 4,6-O-benzylidène-6-deutério-α-D-glucopyranoside (XVII) (76).

La méthode consiste à faire réagir le sucre dans le benzaldéhyde fraîchement distillé en présence de chlorure de zinc. Le rendement est approximativement de 50% c'est à dire inférieur à ce que l'on trouve dans la littérature.

b). Acétylation du produit (XVII).

Nous utilisons le mélange pyridine.anhydride acétique. Le produit (XVIII) cristallise seul après évaporation des réactifs et entraînements des traces au toluène. Ses caractéristiques physiques sont identiques à celles de son homologue non deutérié. Des spectres du composé dans le benzène deutérié ont été réalisés au HA 100.

Le deutérium a été irradié.

En outre des calculs de spectres à l'aide d'un programme T. LAOCOON ont été faits dans les deux hypothèses de deutériation.

B. Méthyl 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-6-deutério-α-D-glucopyranoside (XIX).

L'acétylation du composé XVI a été effectuée comme précédemment.

Nous obtenons le dérivé XIX qui cristallise facilement dans l'éthanol et dont les propriétés physiques

sont inchangées par rapport au dérivé non deutérié.

Un spectre de masse et des spectres de R.M.N au HA 100 dans le benzène deutérié avec irradiation du deutérium ont été réalisés. De plus pour vérifier l'attribution faite sur les protons 3 et 4 nous avons fait calculer le spectre du dérivé à l'aide d'un programme T. LAOCOON 700.

C. Hexa-O-acétyl-6-deutério-sorbitol (XXI).

Pour préparer de composé nous avons tout d'abord hydrolysé le produit (XVI). La méthode choisie est la suivante:

600mg de 6-monodeutério (XVI) et 15ml d'acide chlorhydrique 3N sont agités sur un thermostat à 80°C pendant 15 heures jusqu'aux premières traces de charbonnement.

Le mélange obtenu est alors filtré sur charbon actif puis passé sur une colonne échangeuse d'ions (Amberlite I.R. 45 OH^-). L'éluat est évaporé et séché dans un dessicateur chauffant sous vide poussé.

Sur 5mg du composé sec nous avons préparé le dérivé triméthylsilyl correspondant et vérifié que nous avions bien en chromatographie en phase gazeuse (colonne silicone SE 30 20% à 190°) deux pics dûs à la présence des deux dérivés du glucose α et β (XX).

L' hexa-O-acétyl-6-deutério sorbitol a été préparé sur 274 mg de ce glucose monodeutérié.

Dans un 1er stade le sucre (XX) est agité avec 15ml d'eau et 150mg de $NaBH_4$ pendant 6 heures à la température ambiante. A la fin de la réaction et jusqu'à ce que l'effervescence cesse l'excès de borohydrure est détruit par l'acide acétique. On filtre et on évapore à sec à 50 °C. Pour déplacer l'acide borique qui donne un complexe en présence d'alditol le résidu est évaporé plusieurs fois (7) à l'aide de 20ml de méthanol.

Enfin le produit restant après séchage est acétylé par la méthode classique.

Après 15 heures d'agitation les réactifs sont évaporés et le résidu repris par un peu d'eau. L'hexa-O-

acétyl-6-deutério sorbitol est extrait au chloroforme. La phase organique est lavée au bicarbonate et à l'eau puis purifiée sur charbon et séchée sur $MgSO_4$. Le produit (XXI) cristallise dans l'éther éthylique (200mg).
Rendement 30%. PF 97-98°C;

Il est chromatographiquement pur (en phase gazeuse sur une colonne de silicone SE 30 (20%) à 190°C).

Son spectre de masse ainsi que son spectre de R.M.N dans le chloroforme deutérié, avec irradiation du deutérium au HA 100 ont été réalisés.

E. 1,2-O-isopropylidène -3,5,6-tri-O-acétyl-6-deutério-glucofuranose (XXIII).

Nous préparons tout d'abord le dérivé diisopropylidène (XXII) selon le procédé classique faisant intervenir l'acétone, le chlorure de zinc et l'acide phosphorique à partir de 250mg de glucose α et β monodeutérié (XX). Nous obtenons environ 250mg de di-O-isopropylidène que nous hydrolysons partiellement par 2ml de Résine Amberlite IR 120H$^+$ dans 10ml d'eau distillée. Après 4 heures d'agitation à la température ambiante le mélange est filtré puis évaporé à sec. On obtient 170mg d'un produit blanc qui fond à 155°C et qui ne possède plus (en R.M.N) qu'un pont isopropylidène.

Après acétylation le composé (XXIII) refuse de cristalliser cependant ses spectres de R.M.N au A 60 et au HA 100 dans le benzène deutérié se révèlent satisfaisants.

B I B L I O G R A P H I E

1.	P.D. VASKO, J. BLACKWELL, J.L. KOENIG Carbohyd. Res.	19	297	1971
2.	F. BARNOUD, D. GAGNAIRE, L. ODIER, M. VINCENDON, Sous presse			
3.	R.U. LEMIEUX, J.D. STEVENS Can. J. Chem.	44	249	1966
4.	L.N. OWEN, S. PEAT, W.J.G. JONES J. Chem. Soc.		339	1941
5.	M. CLODE, D. HORTON Carbohyd. Res.	19	329	1971
6.	W. SOWA, G.H.S. THOMAS Can. J. Chem.	44	836	1966
7.	P.M. COLLINS Tetrahedron	21	1809	1965
8.	R.U. LEMIEUX, R. SUEMITSU, S.W. GUNNER Can. J. Chem.	46	1040	1968
9.	W.J. SERFONTEIN, J.H. JORDAAN, J. WHITE Tetrahedron Letters	18	1069	1964
10.	R.U. LEMIEUX, T.L. NAGABHUSHAN, S.W. GUNNER . Can. J. Chem.	46	405	1968
11.	H.S. ISBELL, H.L. FRUSH, C.W.R. WADE A.J. FATIADI J. Res. Nat. Bur. Stand.	73A	75	1969
12.	R.U. LEMIEUX, R.K. KULLNIG, H.J. BERNSTEIN, W.G. SCHNEIDER. J.A.C.S	80	6098	1958
13.	D. HORTON, J.S. JEWELL, E.K. JUST J.D. WANDER. Carbohyd. Res.	18	49	1971
14.	B.D. KOHN, P. KOHN. J. Org. Chem.	28	1037	1963
15.	O. GABRIEL. Carbohyd Res.	6	319	1968
16.	H.S. ISBELL, H.L. FRUSH. Methods in Carbohyd. Chem. Vol II p 16 Academic Press. N. Y. and London			1963
17.	RODD'S CHEMISTRY OF CARBON COMPOUNDS Second Edition by S. COFFEY. Vol I part. F. Elsevier			1967
18.	L. MESTER. Ber.	93	1684	1960
19.	B.A. LEWIS, F. SMITH, A.M. STEPHEN Methods in Carbohyd. Chem Vol II p 68			
20.	GLATTFELD. J.A.C.S	49	2305	1927
		57	2204	1935
		59	753	1937

21.	T.A. GEISSMAN. Principes de Chimie Organique p. 270 dunod PARIS			1965
22.	GAYLORD. Reduction With Complex Metal Hydrides p 101 . Interscience			1956
23.	R.A. WEERMAN. Recueil Travaux Chimiques des Pays-Bas	37	16	1917
24.	KILIANI. Ber.	19	3033	1886
25.	JWE. GLATTFELD, D. MAC MILLAN. J.A.C.S.	56	2481	1934
26.	C.S. HUDSON, S. KOMATSU. J.A.C.S.	41	1141	1919
27.	M.L. WOLFROM, R.B. BENNET, J.D. CRUM J.A.C.S	80	944	1958
28.	RODD'S CHEMISTRY. Second Edition by S. COFFEY, Vol. 1 Part F p. 352 Elsevier			1967
29.	O.T. SCHMIDT. Methods in Carbohyd, Chem. Vol. II p. 318			
30.	J. STANEK, M. CERNY The Monosaccharides p 337 Czechoslovak Academy of Sciences Prague			1963
31.	SJ. ANGYAL, RM. HOPKINSON J.C.S.		2985	1962
32.	ME. EVANS. FW. PARRISH Tetrahedron Letters	32	3805	1966
33.	WW. EPSTEIN, F.W. SWEAT Chemical Reviews	67	247	1967
34.	K.HEYNS, H. PAUSEN Adv. in Carbohyd Chem	17	169	1962
35.	GI. POOS, GE. ARTH, RE. BEYLER L.H.SARETT. J.A.C.S	75	422	1953
36.	JM. SUGIHARA, GU. YUEN J.A.C.S	79	5780	1957
37.	O. THEANDER. Acta. Chemica. Scandinavica	18	2209	1964
38.	HH. SISLER, J.D. BUSH, OE. ACCOUNTIUS J.A.C.S	70	3827	1948
39.	CC. PRICE. C. and En.		58	1964
40.	K.E. PFITZNER, JG. MOFFAT. J.A.C.S	85	3027	1963
41.	KE. PFITZNER, JG. MOFFAT . J.A.C.S	87	5661	1965
		87	5670	1965
42.	A.H. FENSELAU, J.G. MOFFAT. J.A.C.S	88	1762	1966
43.	JD. ALBRIGHT,L. GOLDMAN. J.A.C.S	87	4214	1965
44.	JS. BRIMACOMBE, JG.H BRYAN, A. HUSAIN Carbohyd. Res.	3	318	1967
45.	JL. GODMAN, D. HORTON Carbohyd. Res.	6	229	1968
46.	D. HORTON, JS. JEWELL. Carbohyd. Res.	2	251	1966

47.	K. ONODERA, S. HIRANO,N. KASHIMURA J.A.C.S	87	4651	1965
48.	K. ONODERA, S. HIRANO, N. KASHIMURA Carbohyd. Res.	6	276	1968
49.	VM. PARIKH , JKN. JONES. Canad. J. Chem	43	3452	1965
50.	H. NAKATA. Tetrahedron	19	1959	1963
51.	L.M. BERKOWITZ; PN. RYLANDER. J.A.C.S	80	6682	1958
52.	PJ. BEYNON, PM. COLLINS, PT. DOGANGES WG. OVEREND J.C.S		1131	1966
53.	PJ. BEYNON, PM. COLLINS, D. GARDINER, WG. OVEREND. Carbohyd. Res.	6	431	1968
54.	GEISSMAN. Chimie Organique p 161 Dunod Paris			1965
55	SW. CHAIKIN, WG. BROWN. J.A.C.S	71	122	1949
56.	NG. GAYLORD. Reduction with Complex Metal Hydrides Interscience p. 283			1956
57.	AJ. FATIADI. Carbohyd. Res	6	237	1968
58.	CD. HURD, JC. SOWDEN. J.A.C.S	60	235	1938
59.	JWE. GLATTFELD, EH. SHAVER. J.A.C.S		2305	1927
60.	SJ. ANGYAL. K.JAMES. Chem. Com.	11	617	1969
61.	RU.LEMIEUX, JD. STEVENS. Canad. J. of Chem.	43	2059	1965
62.	D. GAGNAIRE, P. MONZEGLIO Bull. Soc. Chim.		474	1965
63.	LD. HALL, JF. MANVILLE, NS. BHACCA Can. J. Chem.	47	1	1969
64.	CV. HOLLAND, D. HORTON, HJ. MILLER N.S. BHACCA. J. Org. Chem	32	3077	1967
65.	FE. HRUSKA, AA. SMITH, JG. DALTON J.A.C.S	93	4334	1971
66.	JD. ALBRIGHT, E. BENZ, AE. LAMZILOTTI L. GOLDMAN. Chem. Com.		413	1965
67.	ME. EVANS, L. LONG, FW. PARRISH.J.O.C	33	1074	1968
68.	TD. INCH. Ann. Rev. NMR Spectrosc.	2	35	1969
69.	K. BIEMANN, DC. DE JONGH, HK. SCHNOES J.A.C.S	85	1763	1963
70.	DC. DE JONGH, K. BIEMANN J.A.C.S	85	2289	1963
71.	S.J. ANGYAL, R. LEFUR, D. GAGNAIRE Sous presse			
72.	D. HORTON. JD. WANDER, Carbohyd.Res.	15	271	1970
73.	SG. LALAND. Acta Chem. Scand	8	866	1954
74.	P. DURETTE, D. HORTON. Adv. Carbohyd. Chem. and Biochem. sous presse			
75.	CH. BREVARD,JP. KINTZINGER,JM. LEHN Chem. Comm.		1193	1969
76.	N.K. RICHTMYER. Methods in Carbohyd. Chem . Vol. I p 108			
77.	A.MARADUFU, G.M. CREE, A.S. PERLIN. Can. J. Chem.	49	3429	1971

ANNEXE

CARBOXYMETHYLGLUCOSES

C H A P I T R E I

INTRODUCTION

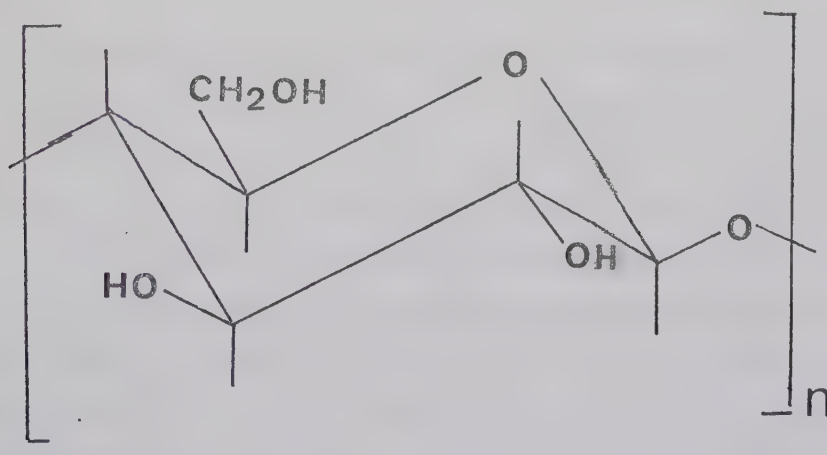
C'est vers la fin de la deuxième guerre mondiale que les carboxyméthylcelluloses ou éthers cellulosiques que JANSEN (1) prépara pour la première fois en 1921, apparurent en grande quantité sur le marché international. Cet intérêt soudain pour ces dérivés plus de vingt ans après leur découverte était dû à une application tardive de leurs nombreuses propriétés. En effet, le caractère hydrophile, la haute viscosité en solution diluée, les propriétés adhésives, colloïdales et protectrices, ainsi que la faible toxicité de ces substances, les firent rechercher par plusieurs branches de l'industrie, par exemple les industries textiles, celles du papier, du pétrole, des détergents, des céramiques, des produits pharmaceutiques et des cosmétiques qui les utilisèrent et les utilisent encore dans des préparations variées. Les méthodes de préparation de ces éthers sont connues et ont été décrites dans de nombreuses publications (2,3,4). Elles consistent en général à répéter plusieurs fois la réaction d'éthérification sur le même échantillon. Enfin la mise au point à l'école de Papèterie de Grenoble d'une de ces méthodes utilisant l'ammoniac liquide comme solvant (5), nous a permis d'envisager une étude sur les mono et polysaccharides carbo-

xyméthylés, parallèle à celle réalisée par Monsieur L. ODIER sur les produits d'hydrolyse des méthyl: celluloses et les méthyl α et β méthyl glucosides (6).

Cette étude correspondait à la détermination du pourcentage de substitution, sur chaque position dans les glucoses partiellement méthylés.

C'est là un problème général sur lequel se sont penchés un grand nombre de chercheurs intéressés par la différence d'accessibilité des polysaccharides à divers réactifs d'éthérification.

Par exemple, la connaissance du mode de répartition des substituants entre les groupes hydroxyles primaires en 6 et secondaires en 2 et 3 (voir schéma) est nécessaire pour répondre aux questions que l'on peut se poser sur le mécanisme intervenant dans la préparation de ces dérivés cellulosiques, vis à vis des unités glucosiques, de l'arrangement des chaînes entre elles et de leur structure.



En ce qui concerne les carboxyméthyl celluloses, trois catégories de travaux peuvent être envisagées :

- une première catégorie consiste à doser les groupes hydroxyles libres dans le polymère au moyen de réactions de substitutions et de dégradations, par exemple la tritylation du groupe hydroxyle primaire, le seul à réagir à cause

de l'encombrement du trityle (7), ou la tosylation du même groupe (7), suivie d'une ioduration et du dosage de l'iode par iodométrie (8). Les groupes hydroxyles secondaires restant sont dosés par oxydation au périodate de sodium (2,9) ou au tétraacétate de plomb (10).

- une deuxième catégorie est fondée sur l'hydrolyse du polymère. Les différents dérivés glucosiques obtenus sont isolés par cristallisation fractionnée, distillation ou chromatographie. Autre possibilité, ils peuvent être dosés dans l'hydrolysat par chromatographie quantitative (11,12,13).

La phase d'hydrolyse est relativement simple et ne pose que peu de problèmes techniques. Par contre, les difficultés surgissent lors des phases de fractionnement et de séparation en raison du nombre important de composés que l'on peut faire apparaitre : seize dans le cas de l'hydrolyse d'une carboxyméthyl cellulose partiellement carboxyméthylée, compte tenu des deux épimères pour chaque possibilité de substitution

- La dernière catégorie fait appel à la R.M.N (Résonance Magnétique Nucléaire). Cette méthode de dosage a déjà été utilisée avec succès dans le cas des monomères méthylés (6,14, 15) et acétylés (16), ainsi que dans le cas des méthylcelluloses (17) et des acétates de celluloses (18).

Le principe de la méthode est le suivant :

On remplace dans un composé n sites OH par n sites OR sélectivement deutériés. La comparaison en R.M.N entre les intensités des pics correspondant aux groupes R non deutériés, après séparation éventuelle des anomères, conduit au pourcentage de substitution dans le composé initial.

Trois conditions doivent être remplies. Il faut :

1° savoir substituer totalement les dérivés initiaux

2° repérer alors en R.M.N n pics pour les n positions

3° attribuer de façon univoque les n pics aux n positions. Cette attribution nécessite la préparation de n-1 échantillons de référence au lieu de $\frac{n(n-1)}{2}$ dans le cas de

l'identification directe.

Il est entendu que l'information recueillie en R.M.N n'est pas totale car si elle conduit bien au pourcentage de substitution sur chaque position elle ne donne pas la répartition en substitution proprement dite (0,1 ....n fois) qui serait obtenue par spectrométrie de masse.

Nous nous sommes proposés au cours de cette étude de tester la préparation et d'analyser les principales caractéristiques des différents dérivés carboxyméthylés indispensables pour l'application de la méthode de dosage par R.M.N.

Si l'on ne considère pas pour l'instant le problème de la position anomère, n = 4 et par conséquent 3 échantillons sont nécessaires. D'autre part, le groupe OR deutérié peut être :

- OCH_2COOCD_3

ou

- OCD_2COOCD_3

La vérification de la condition 2 vue précédemment entraîne l'utilisation d'un appareillage de R.M.N à champ élevé (100 mégacycles ou plus) et la recherche d'un solvant pour R.M.N approprié.

C H A P I T R E II

LES CARBOXYMETHYLGLUCOSES ET LEURS SPECTRES DE R.M.N

II.1. REMARQUES

Dans ce chapitre nous aborderons successivement quelques généralités bibliographiques concernant la carboxyméthylation des sucres et l'hydrolyse des carboxyméthylcelluloses, la préparation des trois échantillons substitués sur les positions du glucose les plus accessibles, c'est à dire 3,6 et 2,3 enfin l'examen de leurs spectres de R.M.N

Nous avons également effectué un essai de carboxyméthylation totale du méthyl α -D-glucopyranoside dans lequel la position anomérique est bloquée.

Parallèlement à la préparation de dérivés carboxyméthylés, des méthylcarboxyméthylcelluloses ont été préparé dans le cadre de notre laboratoire (23) afin d'étudier l'influence des groupes hydrophobes sur la conformation et les propriétés des polyélectrolytes, soit :

1° en carboxyméthylant la cellulose et en méthylant les produits obtenus,

2° en méthylant la cellulose et en carboxyméthylant les méthylcelluloses.

Le taux de méthoxyle a été mesuré par la méthode de R.M.N beaucoup plus précise que la méthode de Zeisel.

Dans le premier cas, du fait de leur encombrement les groupes carboxyméthyles gênent la méthylation. D'autre part, les échantillons méthylés sont insolubles dans l'eau et par conséquent inadéquats pour une étude des propriétés des polyélectrolytes.

Dans le deuxième cas, les risques d'insolubilité demeurent. De plus, il a été constaté que la réaction de carboxyméthylation est fortement inhibée en présence de groupes méthoxyles.

L'ensemble de ces résultats s'ajoutant aux nôtres en ce qui concerne la préparation et l'analyse des modèles nousont conduits à laisser en suspens cette étude dans l'état actuel de nos connaissances. Néanmoins nous ferons dans les paragraphes qui suivent le bilan du travail que nous avons effectué.

II.2. GENERALITES BIBLIOGRAPHIQUES

A. Carboxyméthylation des hydrates de carbone

Le procédé général de carboxyméthylation des composés du glucose ayant un groupe hydroxyle libre consiste à faire réagir du bromoacétate de méthyl avec un dérivé sodé. Ce dernier est préparé en utilisant des dispersions de sodium très réactives, réalisées au laboratoire (19) ou commerciales (sodium à 50% en dispersion dans la paraffine).

Ces dispersions sont des suspensions de particules de sodium très fines, dans un milieu inerte. Des dispersions d'hydrure de sodium dans l'huile peuvent également être utilisées (20). La réaction de carboxyméthylation a lieu sous atmosphère d'azote et dans un solvant éthéré.

La méthode de PURDIE (20) qui consiste à traiter

le sucre, non réducteur par le bromoacétate de méthyl à ébullition et en milieu anhydre en présence d'oxyde d'argent, est également applicable.

L'éthérification complète est une opération longue et difficile, qui nécessite parfois plusieurs traitements successifs. Dans ce cas le produit obtenu après chaque traitement doit être contrôlé et l'opération répétée jusqu'à isolement d'un dérivé dont le pouvoir rotatoire et la teneur en groupe hydroxyle soient constants.

B. Hydrolyse des carboxyméthylcelluloses (12,22)

Les éthers cellulosiques sont en général caractérisés par une très grande stabilité vis à vis des bases et une stabilité assez bonne vis à vis des acides.

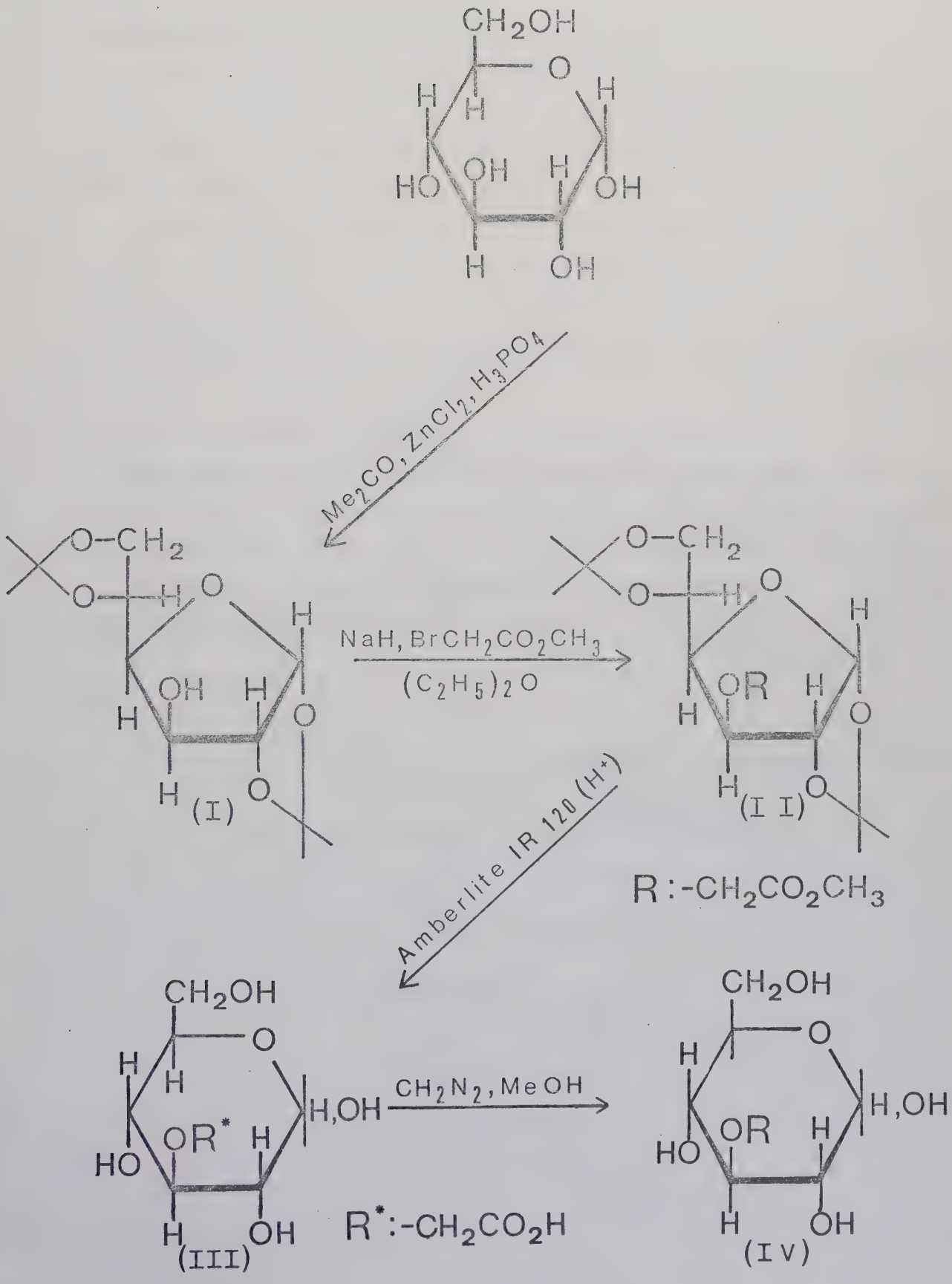
Cependant, les acides minéraux chauds et concentrés produisent une réaction de déséthérification rapide tandis que bouillants et dilués ou à la température ambiante et concentrés ils attaquent seulement les liaisons glycosidiques. CROON et PURVES (12) ont hydrolysé une CMC de D.S. = 0,98 avec de l'acide sulfurique à 72% à la température ordinaire. Après neutralisation ils chromatographient le mélange réactionnel sur une colonne de carbone et de célite et obtiennent huit fractions qui analysées montrent que la séparation a été complète. Chaque fraction est identifiée aux carboxyméthylglucoses correspondants de deux manières :

- soit par comparaison avec les sucres modèles préparés par TIMELL et SHYLUK (21)
- soit par titration analytique, chromatographie sur papier ou électrophorèse.

II. 3. CARBOXYMETHYLATION EN POSITION 3.

Le tableau I résume le processus réactionnel :

TABLEAU I


CH2OH
O
H
H
HO
OH
H
OH
H
OH
Me2CO; ZnCl2; H3PO4
O–CH2
O
H
O
H
OH
H
H
O
H
(I)
O
NaH, BrCH2CO2CH3
(C2H5)2O
O–CH2
O
H
O
H
OR
H
H
O
H
(II)
O
R : -CH2CO2CH3
Amberlite IR 120 (H+)
CH2OH
O
H
H
H,OH
HO
OR*
H
H
OH
(III)
R* : -CH2CO2H
CH2N2, MeOH
CH2OH
O
H
H
H,OH
HO
OR
H
H
OH
(IV)

Le 1,2 : 5,6-di-O-isopropylidène-α -D-glucofuranose (I) a été préparé selon la méthode décrite dans "Methods in Carbohydrate Chemistry" (24).

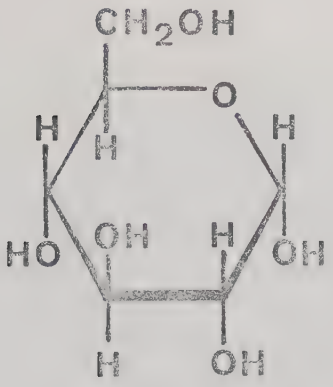
En ce qui concerne le 3-O-carboxyméthyl correspondant (II) nous avons repris la méthode décrite par SHYLUK et TIMELL. Ces auteurs emploient une dispersion d'hydrure de sodium et le bromoacétate de méthyle. La réaction a lieu en milieu éthéré et sous azote. Elle conduit après extraction et cristallisation au produit (II) dont le spectre de R.M.N présente les caractéristiques décrites figure 1; page 148).

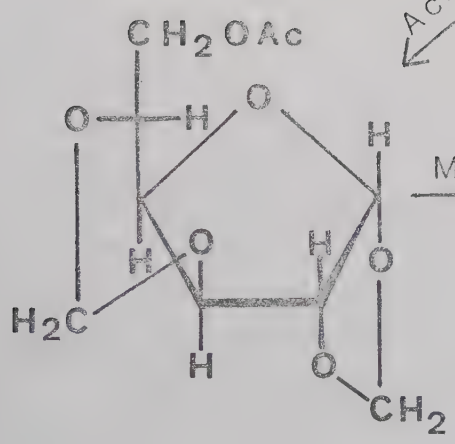
L'hydrolyse qui libère le produit (III) a lieu en présence de résine échangeuse d'ions. Notons que le produit (III) est un mélange des deux épimères α et β . Il ne cristallise pas. Après méthylation de la fonction -COOH (libérée lors de l'hydrolyse) par le diazométhane dans le méthanol absolu, nous obtenons le mélange (IV) qui ne cristallise pas et que nous n'avons pas séparé.

II. 4. CARBOXYMETHYLATION EN 6.

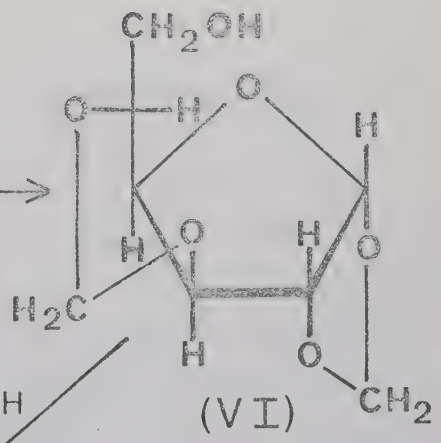
Le tableau II résume le procédé utilisé :

TABLEAU II

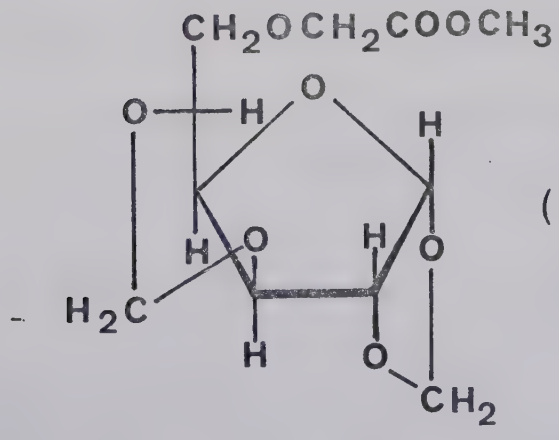




(V)



(VI)



(VII)

Le 6-acétyl bisméthylène-D-glucose (V) a été préparé selon la méthode de HOUGH, JONES et MAGSON (25) qui font réagir successivement l'acide acétique, le paraformaldéhyde et l'acide sulfurique sur une solution aqueuse de D-glucose. Il est ensuite déacétylé, par le méthylate de sodium puis carboxyméthylé comme dans le cas précédent. Nous obtenons un sirop qui ne cristallise pas et que nous chromatographions sur colonne en utilisant le mélange benzène-éther comme éluant.

Nous obtenons alors le produit VII dont le spectre de R.M.N présente les caractéristiques décrites figure 2 (page150).

II. 5. CARBOXYMETHYLATION EN 2 et 3.

Le méthyl 4,6-O-benzylidène -α-D-glucopyranoside (VIII), a été préparé selon le procédé décrit dans "Methods in Carbohyd. Chem". (26). Ce composé a été ensuite carboxyméthylé de la façon décrite précédemment. On obtient un sirop qui a été chromatographié sur une colonne de gel de silice. Le spectre de R.M.N du dérivé isolé (IX) a été réalisé (figure 3, page152).

II. 6. CARBOXYMETHYLATION DU METHYL α -D-GLUCOPYRANOSIDE.

Le produit obtenu, non cristallisé (X) a été examiné en R.M.N (figure 4, page154).

II. 7. CONCLUSIONS

L'absence de groupe bloquant en position 1, nous a gênés dans la mesure où les dérivés préparés sont des mélanges qui ne cristallisent pas et dont les spectres de R.M.N par

conséquent ne sont pas absolument sûrs.

L'examen de ces spectres montrant en outre une interférence entre les protons des groupes méthyléniques et ceux des groupes méthoxyles ce qui rend difficile la recherche de signaux caractéristiques de chaque position et une attribution univoque correspondante.

Notre conclusion sera donc celle de CROON qui dans un article remarquait que la préparation des dérivés carboxyméthylés du glucose devait être recherchée "à partir de l'hydrolyse de carboxyméthylcelluloses plutôt que dans des méthodes de synthèse ambigues".

FIGURE N° 1. SPECTRE DE RMN de l'ester méthylique du 3-O-carboxyméthyl-1,2 ; 5,6-di-o-isopropylidène-α D-glucofuranose (II).

- Spectre réalisé à 60 mégacycles par sec. dans le $C Cl_4$.

ON OBSERVE

- entre 1,30 et 1,45 ppm : l'ensemble des pics correspondant aux protons isopropylidéniques.

- à 3,76 ppm : le pic du groupe méthoxyle.

- entre 3,70 et 4,3 ppm : un ensemble de signaux correspondant aux protons du cycle (à l'exception de H_1 et de H_2) et à ceux du groupe méthylénique du substituant.

- à 4,66 ppm : un doublet correspondant au proton 2 couplé avec le proton 1 (J_{2-1} 3,5 cps)

- à 5,80 ppm : le doublet du proton anomérique.

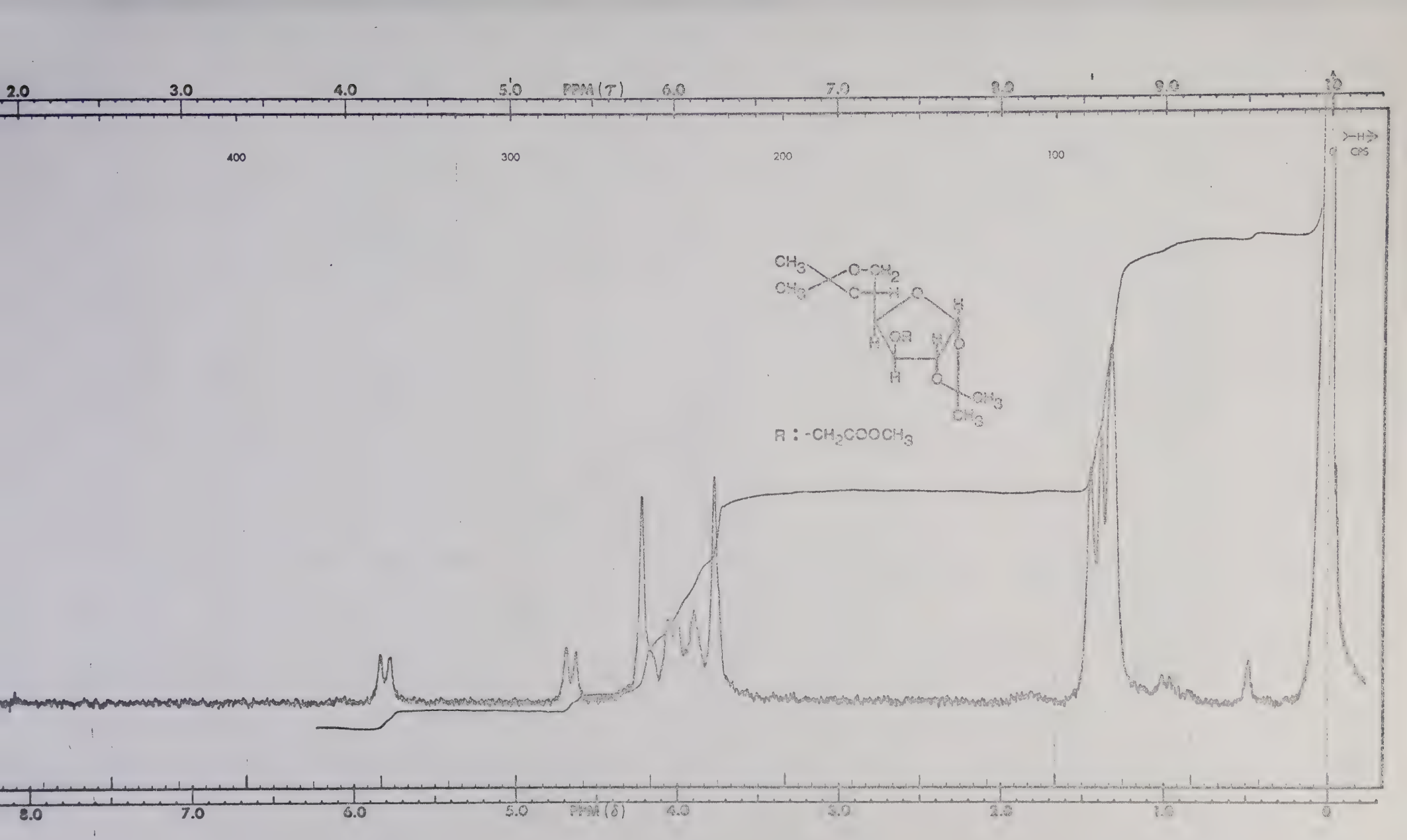

2.0
3.0
4.0
5.0
PPM(τ)
6.0
7.0
8.0
9.0
10
400
300
200
100
CPS
R : -CH2COOCH3
8.0
7.0
6.0
5.0
PPM(δ)
4.0
3.0
2.0
1.0
0

FIGURE N° 2. SPECTRE DE RMN de l'ester méthylique du 6-O carboxyméthyl-1,2 ; 5,6-di-O-méthylène-α-D-glucofuranose.

- Spectre réalisé à 60 mégacycles par sec. dans le CD_3OD.

ON OBSERVE

- entre 3,80 et 5,2 : une série de raies correspondant aux protons du cycle (à l'exception du proton 1) aux protons méthyléniques et aux protons du méthoxyle (à 4,55 ppm).

- à 6,0 ppm : le proton anomérique.

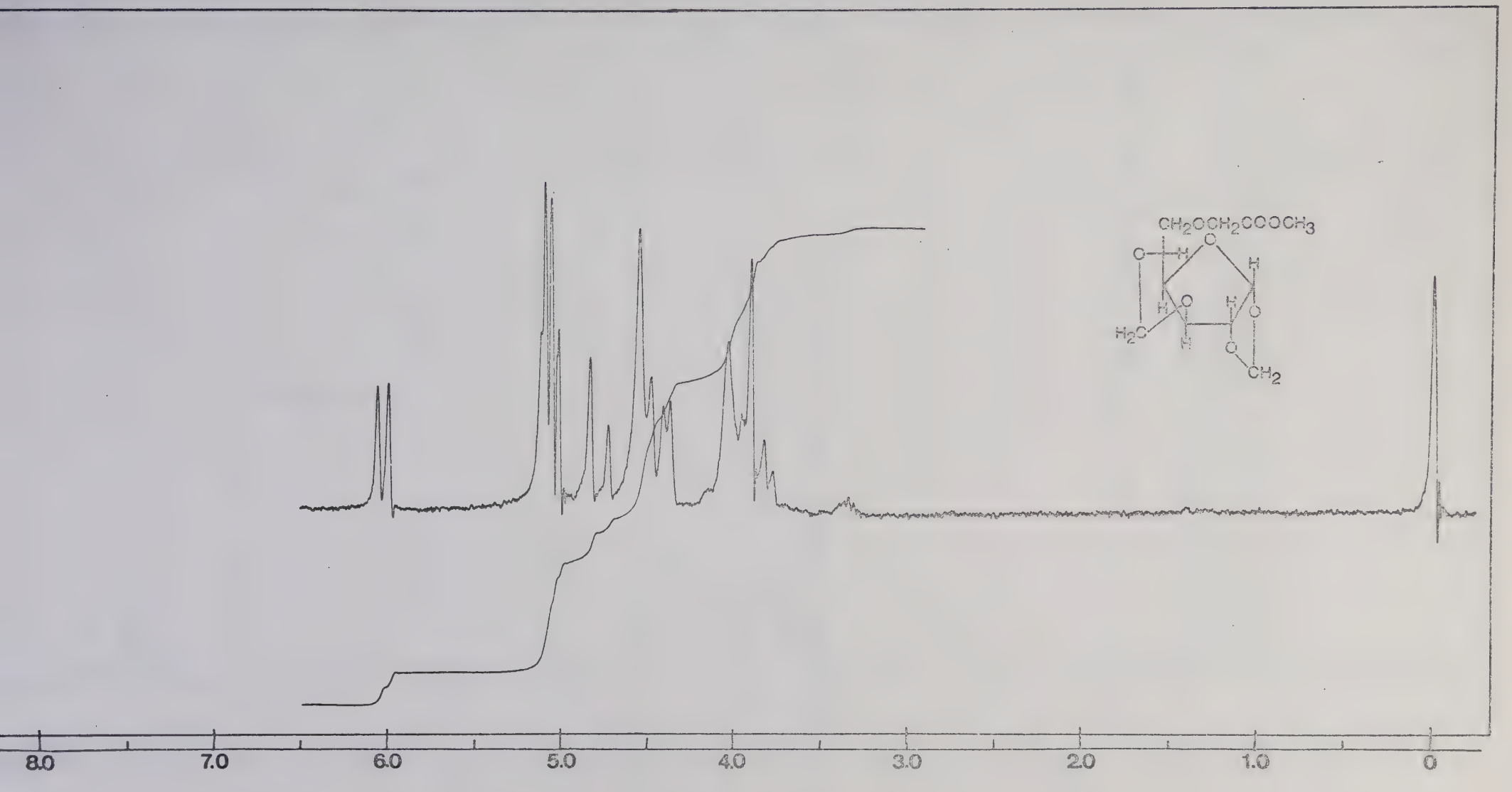

CH2OCH2COOCH3
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0

FIGURE N°3. SPECTRE DE RMN des esters méthyliques du méthyl 2,3-di-O-carboxyméthyl-4,6-O-benzylidène ∝ -D-glucopyranoside (IX).

- Spectre réalisé à 60 mégacycles par sec. dans $CDCl_3$.

ON OBSERVE

- le spectre n'a pas été analysé entièrement.

- entre 3,55 et 3,75 ppm les groupes méthoxyles correspondant aux groupes carboxyméthyles

- à 5,05 : le proton anomérique

2.0
3.0
4.0
5.0
PPM (τ)
6.0
7.0
8.0
9.0
400
300
200
100
Ph
H
O
CH2
H
O
H
H
RO
H
OR
H
OCH3
R : -CH2COOCH3
8.0
7.0
6.0
5.0
PPM (δ)
4.0
3.0
2.0
1.0

FIGURE N° 4. SPECTRE DE RMN des esters méthyliques du méthyl 2,3,4,6-tétra-O-carboxyméthyl-α-D-glucopyranoside (X).

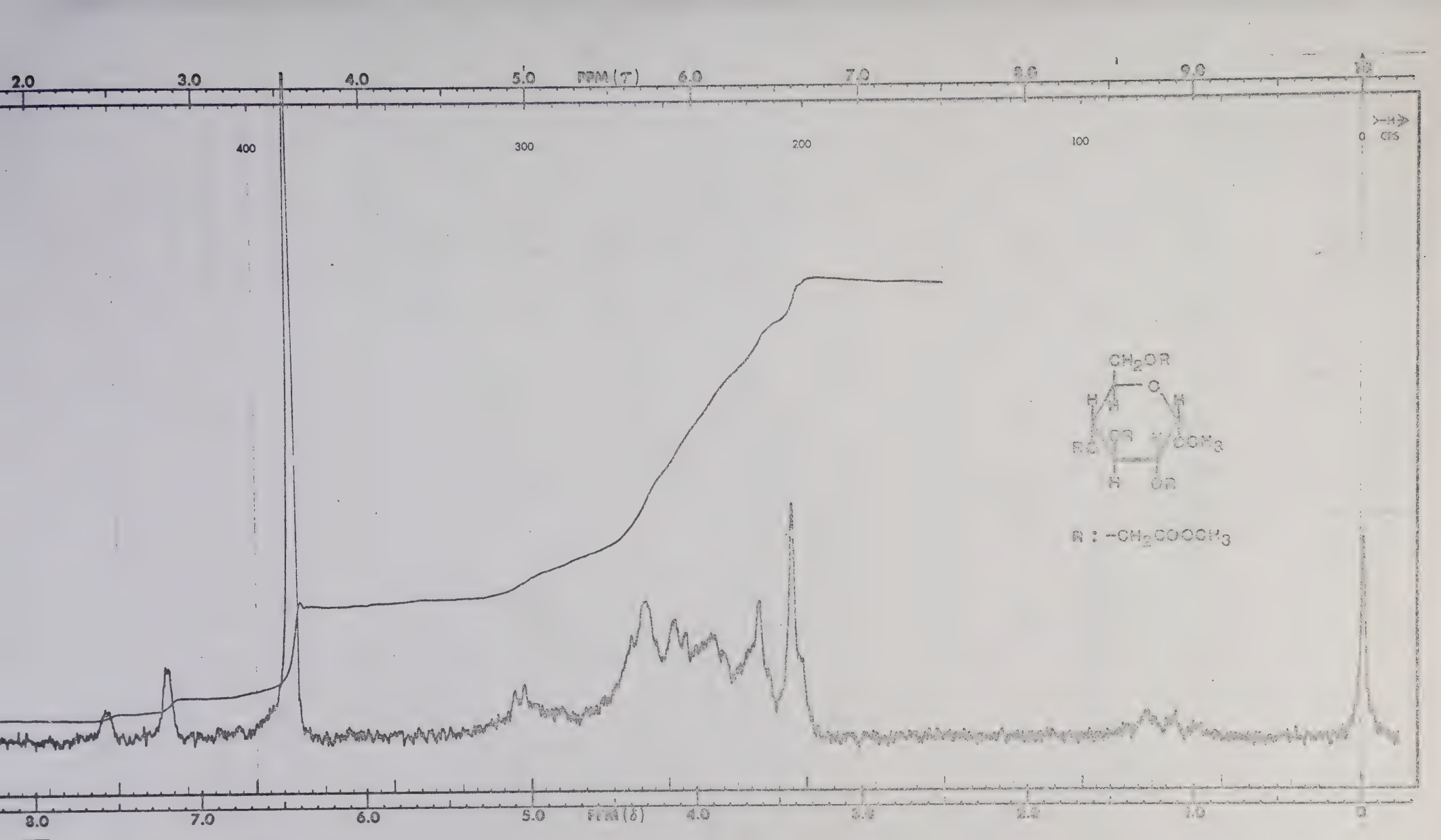
- Spectre réalisé à 60 mégacycles par sec. dans la pyridine deutériée.

ON OBSERVE

- le proton anomérique à 5,1 ppm

- le groupe méthoxyle de la position 1 à 3,4 ppm

- les autres groupes méthoxyles (ébauche) et les protons restant du cycle.


2.0
3.0
4.0
5.0
PPM (τ)
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
400
300
200
100
0
CPS
CH2OR
O
H
H
RO
OR
H
OR
COCH3
R : -CH2COOCH3
8.0
7.0
6.0
5.0
PPM (δ)
4.0
3.0
2.0
1.0
0

C H A P I T R E III

PARTIE EXPERIMENTALE

III. A. 3-O-CARBOXYMETHYL-D-GLUCOSE

a). 1,2 ; 5,6-di-o-isopropylidène-α-D-gluco-furanose (I).

Voir préparation référence (6)

b). 3-O-carboxyméthyl-1,2 ; 5,6-di-O-isopropylidène D-gluco-furanose méthyl ester (II).

4 ml d'hydrure de sodium en dispersion sont ajoutés à 5 g de 1,2 ; 5,6-di-o-isopropylidène-D-glucofuranose dans 75ml d'éther éthylique absolu. Le mélange est agité sous azote à la température ambiante pendant 18 heures. Le bromoacétate de méthyl (5ml) est alors ajouté ce qui provoque une réaction immédiate avec élévation de température. L'agitation est poursuivie pendant encore 12 heures après quoi 5ml de bromoacétate de méthyl sont rajoutés au mélange qu'on laisse sous agitation 28 heures supplémentaires. L'excès d'hydrure est détruit au moyen d'un très petit volume de méthanol absolu. On ajoute ensuite 75 ml d'éther éthylique et 50ml d'eau. La phase aqueuse rouge foncé est écartée tandis que la phase éthérée est recueillie et lavée avec de très petites quantités d'eau. Après lavage la solution éthérée est jaune pâle. Elle est séchée sur sulfate de sodium anhydre puis concentrée sous vide à 50 et 75°C. Elle conduit à 8,3g d'un produit cristallin qui est recristallisé dans l'éther isopropylique. Les cristaux obtenus se présentent sous la forme de fines aiguilles blanches (4,5g) dont le point de fusion est de 103°C. Voir son spectre de R.M.N réalisé à 60 mégacycles par sec. dans le tétra-chlorure.

c). 3-O-carboxyméthyl-D-glucose (III).

Un mélange de 2 g de 3-O-carboxyméthyl-1,2 : 5,6 di-O-isopropylidène-D-glucofuranose méthyl ester et 8g de résine amberlite I.R. -120 dans 10ml d'eau sont agités à reflux pendant 12 heures. La résine est ensuite filtrée et lavée abondamment à l'eau. Le filtrat et les eaux de lavage sont jointe et traités au Darco G.60 et concentrés jusqu'à 50ml environ. La solution restante est lyophilisée. Elle conduit à un sirop jaune très hygroscopique qui ne cristallise pas mais que la chromatographie sur plaques révèle pur.

d). 3-O-carboxyméthyl-D-glucopyranose méthyl ester (IV).

1g du sirop précédent est dissous dans un peu de méthanol anhydre et refroidi à 0°C. On ajoute par fractions la solution éthérée de diazométhane (voir la préparation plus loin) jusqu'à ce que le dégagement gazeux cesse et que le milieu réactionnel garde une teinte jaune pâle, signe que le diazométhane est en excès. (On peut tester cet excès en faisant un essai sur quelques gouttes du mélange en présence d'acide acétique. En cas d'excès un dégagement gazeux se produit). On laisse alors la solution au repos pendant 6 heures puis on l'évapore. Elle conduit à un sirop jaune pâle qui ne cristallise pas.

NOTE : Préparation de la solution éthérée de diazométhane.

Le diazométhane étant très toxique, il est recommandé de conduire toutes les manipulations où il intervient, sous une hotte pourvue d'une ventilation efficace.

60ml d'une solution aqueuse de potasse à 50% sont placés avec 200ml d'éther pur dans un flacon de 500ml. Le flacon est refroidi à 5°C et on ajoute 20,6g de nitrosométhylurée, sous agitation. Le flacon est équipé d'une colonne à distiller et d'un pont réfrigérant à l'extrémité

duquel un système plongeant a été installé. Ce système plonge sous la surface de 40ml d'éther absolu contenus dans un flacon conique de 300ml, refroidi par un bain de glace et de sel. Le gaz surnageant est conduit à traverser à nouveau 40ml d'éther d'un deuxième flacon également refroidi. Le flacon renfermant le mélange réactionnel est chauffé jusqu'à ce que l'éther distille jusqu'au tiers de son volume initial. Toutes les fractions éthérées recueillies sont alors rassemblées. Elles renferment environ 5,5g de diazométhane.

III. B/ 6-O-CARBOMETHYL-D-GLUCOSE

a). 1,2 : 3,5-di-O-méthylène-D-glucofuranose (VI)

Voir préparation référence 21.

b). 6-O-carboxyméthyl-1,2 : 3,5-di-O-méthylène-D-glucofuranose méthyl ester (VII).

Une solution de 1,2 : 3,5-di-O-méthylène-D-glucofuranose (1g) et de 2ml d'hydrure de sodium en dispersion dans 25ml de dioxanne absolu est agitéesous azote et à la température ordinaire pendant 25 heures. Cinq ml de bromoacétate de méthyl sont ensuite ajoutés. L'agitation est poursuivie pendant 12 heures. Après addition de 50ml de dioxanne et centrifugation, la solution de dioxanne est évaporée. On obtient un sirop que l'on rince une fois à l'éther de pétrole mais qui ne cristallise pas. 500mg de ce sirop ont été chromatographiés sur une colonne de 25g de silice (kieselgel 0,05 -0,20mm) et de benzène. On ajoute successivement 50ml de benzène, 4x50ml du mélange benzène - éther 5/5, 9x50ml d'éther. 14 fractions sont recueillies et contrôlées par chromatographie sur plaques (kieselgel G nach stahl-Merck). Les plaques 4,6,7,8,9 révèlent la présence de 2 produits. Le premier (63mg) correspondant à la fraction 4 est une impureté que nous avons écartée. Le deuxième (300mg) conduit

à un spectre de R.M.N réalisé à 60 mégacycles par sec. dans le méthanol deutérié, vu dans le chapitre précédent.

III. C. METHYL 4,6-O-BENZYLIDENE-2,3-DI-O-CARBOXYMETHYL-α D-GLUCOPYRANOSIDE METHYL ESTER (IX).

3g de méthyl 4,6-O-benzylidène-α-D-glucopyranoside et 5ml d'hydrure de sodium en dispersion sont agités dans 50ml de dioxanne anhydre sous azote, à la température ordinaire et pendant 14 heures. Au cours de la réaction le mélange s'épaissit et devient gris gélatinaux. Il est agité sans interruption pendant encore 60heures avec 2 ml d'hydrure de sodium supplémentaire. Après quoi on ajoute 10ml de bromoacétate de méthyl, tandis que l'egitation est poursuivie (46 H).

On ajoute au mélange obtenu 50ml de chloroforme et on centrifuge. La solution recueillie est évaporée à 60°-75°C et le sirop restant lavé à l'éther de pétrole. Il est ensuite chromatographié sur colonne (25g de kieselgel 0,05 0,20mm). Eluant : éther éthylique - 20 fractions sont effectuées. Elles conduisent à deux produits.

A. Fractions 4 et 5

B. fractions 14,15,16

Seul le produit A conduit à un spectre de R.M.N (réalisé à 60 mégacycles par sec. dans $CDCl_3$) intéressant.

IV. D. METHYL 2,3,4,6-TETRA-O-CARBOXYMETHYL α -D-GLUCOPYRANOSIDE METHYL ESTER (X).

Nous avons suivi le même procédé que pour la synthèse du produit (IX). Le sirop obtenu a été examiné en R.M.N à 60 mégacycles par sec. dans la pyridine deutériée.

B I B L I O G R A P H I E

Annexe

(1) E. JANSEN
Brev. Allem. N° 332 203 1921

(2) S. RYDHOLM
Svensk. Papperstidn. 53 561 1950

(3) M. BOUTTEMY
Chimie et Industrie 84 891 1960

(4) M. BOUTTEMY
Bull. Soc. Chim., 1750 1960

(5) G. HUDRY-CLERGEON
Thèse de 3e Cycle - Grenoble 1965

(6) L. ODIER
Thèse de 3e Cycle - Grenoble 1968

(7) R.L. WHISTLER
Methods in Carbohyd. Chemistry vol. III p. 209, 280, 327
Academic Press

(8) E. DYER - H.E. ARNOLD
J.A.C.S. 74 2677 1952

(9) T. TIMELL
Svensk. Papperstidn. 52 61 1949

(10) R.L. WHISTLER
Methods in Carbohyd. Chem., vol I p. 427 1962

(11) A. PACAULT - M. BOUTTEMY - O. TANAEVSKY
Bull. Soc. Chim., 345 1952

(12) I. CROON - C.B. PURVES
Svensk. Papperstidn. 62 876 1959

(13) T.E. TIMELL
Svensk. Papperstidn. 55 649 1952

(14) D. GAGNAIRE - L. ODIER
Carbohyd. Res. 11 33 1969

(15) E.B. RATHBONE - A.M. STEPHEN
Tetrahedron Letters 16 1339 1970

(16) D. HORTON - J.H. LAUTERBACK
J. Org. Chem. 34 86 1969

(17) D. GAGNAIRE - N. HERAN - R. LE FUR - L. POUIT - M. VINCENDON
Bull. Soc. Chim. 12 4326 1970

(18) D. GAGNAIRE - M. VINCENDON
Bull. Soc. Chim. 8 3413 1968

(19) J.M. SNELL - S.M. Mc ELVAIN
Organic Synthesis coll. Vol. 2 p. 114 J. Wiley and Sons

(20) J.S. BRIMACOMBE - B.D. JONES - M. STACEY - J.J. WILLARD
Carbohyd. Res. 2 167 1966

(21) W.P. SHYLUK - T.E. TIMELL
Canad. J. Chem. 34 575 1956

(22) T.E. TIMELL
Svensk. Papperstidn. 7 245 1953

(23) L. POUIT
Thèse de 3e Cycle - Grenoble 1970

(24) O.T. SCHMIDT
Methods in Carbohydrate Chemistry vol. II p. 321 1963

(25) L. HOUGH - J.K.N. JONES - M.S. MAGSON
J. Chem. Soc. 1525 1952

(26) R.L. WHISTLER - M.L. WOLFROM
Methods in Carbohyd. Chem. Vol. I p. 108 1962

Dernière page d'une thèse

VU

Grenoble, le

le Président de la thèse

VU, et permis d'imprimer,

Grenoble, le

le Président de l'Université
Scientifique et Médicale